DIE NATURWISSENSCHAFTEN

30. Jahrgang | 11. September 1942 | Heft 37

Über die Abbesche Mikroskoptheorie und die mit ihr zusammenhängenden Kohärenzfragen[1]).

Von G. Joos und A. Köhler, Jena.

1. Solange man nichts von der Wellenlänge des Lichts weiß, ist der Vorgang der Abbildung eine sehr einfache Angelegenheit, die wir der späteren Betrachtungen wegen uns kurz für Selbstleuchter und Nichtselbstleuchter etwas überlegen wollen[2]). Bei einem Selbstleuchter gehen von jedem einzelnen Punkt „Lichtstrahlen" aus; diese werden durch „Linsen" oder „Spiegel" nach dem Brechungs- bzw. Reflexionsgesetz gebrochen und zu einem Bildpunkt vereinigt, vorausgesetzt, daß das abbildende System „fehlerfrei" beschaffen ist. Als Nichtselbstleuchterabbildung wollen wir die schattenwurfartige Abbildung von durchstrahlten Gegenständen, z. B. Lichtbildern, bezeichnen. Hat die Lichtquelle sehr geringe Ausdehnung, ist sie im Grenzfall „punktförmig", so kann schon ohne jede Linse ein scharfes vergrößertes Schattenbild entworfen werden, und diese scheinbar ganz triviale Art der Abbildung liefert z. B. im Schatten-elektronenmikroskop von Boersch[3]) sehr brauchbare Bilder. Der Normalfall besteht aber darin, daß auch bei Nichtselbstleuchtern die Abbildung durch Linsen (Spiegel) erfolgt. Bei einer punktförmigen Lichtquelle geht jedoch durch jeden Punkt der Grenze Hell—Dunkel nur ein Strahl, so daß eine Abbildung eines Grenzpunktes mittels der durch ihn hindurchgehenden Strahlen unmöglich ist, eine Linse also lediglich die Größe des Schattenbildes beeinflußt (Fig. 1). Zum Glück besitzt jede Lichtquelle eine gewisse Ausdehnung, so daß man z. B. bei der Projektion eines Diapositivs genügend Strahlen hat, die zur Abbildung der Hell—Dunkel-Grenzen herangezogen werden können.

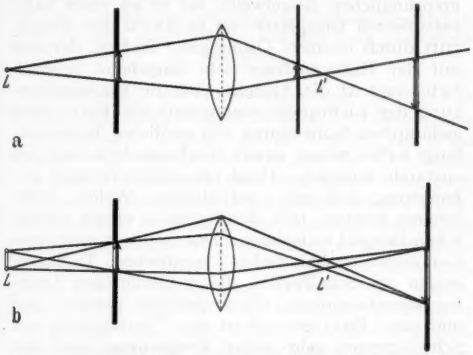

Fig. 1. Geometrisch-optische Abbildung von Nichtselbstleuchtern a) bei punktförmiger, b) bei ausgedehnter Lichtquelle.

2. In Wirklichkeit besteht das Licht nicht aus Strahlen, die wir einfach geometrisch zeichnen können, sondern seine Wellennatur bedingt an jeder Begrenzung eine „Beugung", d. h. ein Übergreifen der Lichterregung in den Schattenraum und eine gewisse Modifikation im Lichtraum. Wenn man einen Selbstleuchter in einzelne strahlende Punkte aufgelöst denkt, so geht von jedem Punkt eine Kugelwelle aus, die durch die Linsen nach den Gesetzen der geometrischen Optik gebrochen wird. Gleichzeitig treten aber an der Begrenzung der Linse Beugungserscheinungen auf, die bewirken, daß bei kreisförmiger Linsenbegrenzung aus jedem Punkt in der Bildebene ein Beugungsscheibchen mit einer Anzahl von umgebenden Ringen entsteht. Die Grundfrage ist nun: Sind die Erregungen, die von den einzelnen Punkten herrühren, ganz unabhängig voneinander? Den damit angeschnittenen Fragenkomplex bezeichnet man als *Kohärenz*, und die Kohärenz spielt in der Abbeschen Abbildungslehre die entscheidende Rolle, so daß sie zunächst eingehend erörtert werden muß.

3. Wenn eine Stimmgabel einen Ton aussendet, so gehen von ihr Wellenzüge aus, die allmählich abklingen. Schlägt man sie nach dem Abklingen von neuem an, so besteht keine Kontinuität der Schwingungen zwischen dem ersten und dem zweiten Schwingen, d. h. die Schwingungen der Stimmgabel, und damit der abgestrahlten Schallwellen befolgen nur innerhalb der Abklingzeit das einfache Schwingungsgesetz $u = A \sin(\omega t + \delta)$, mit fester Phasenkonstante δ, bei einem neuen Anstoß gilt eine andere Phasenkonstante, weil dieser ja nicht gerade im richtigen Moment, der der Phase der alten Schwingung entspricht, erfolgt. Schlagen wir gleichzeitig zwei gleiche Stimmgabeln (im allgemeinen mit verschiedener Stärke) an, so überlagern sich die von ihnen ausgehenden Wellen, und an einem bestimmten Ort besteht für einen dort befindlichen Beobachter, je nach dem Entfernungsunterschied, eine ganz bestimmte Phasendifferenz. Die dort geltende resultierende Schwingung

$$u = a_1 \sin \omega t + a_2 \sin(\omega t + \varepsilon)\,. \qquad (1)$$

[1]) Aus dem Zeisswerke, Jena. Eingegangen am 13. II. 1942.

[2]) Da dieser Aufsatz in erster Linie für die *Benutzer* des Mikroskops bestimmt ist, vermeidet er längere Rechnungen. Für den Physiker ist anhangsweise eine mathematische Ableitung gegeben.

[3]) H. Boersch, Naturwiss. **27**, 418 (1939).

in der ε eine auch noch durch den Wegunterschied bedingte Phasendifferenz bedeutet, läßt sich zu einer einzigen Sinusschwingung zusammensetzen, deren Amplitude A von der Phasendifferenz abhängt. Ist sie z. B. π, 3π, 5π, d. h. ist der Wegunterschied ein ungerades Vielfaches einer halben Wellenlänge, so ist die Amplitude $(a_1 - a_2)$; bei gleicher Amplitude herrscht an diesem Ort während der Dauer der Stimmgabelschwingungen dauernd Ruhe, also $A = 0$. Ist sie 2π, 4π, 6π, so ist $A = a_1 + a_2$. In jedem Falle sind die beiden Stimmgabeln „im Takt", die von ihnen ausgehenden Wellenzüge sind *vollkommen kohärent*, und die ganze Erscheinung wird als *Interferenz* bezeichnet. Was nimmt man nun wahr, wenn die beiden Stimmgabeln rasch abklingen und unregelmäßig immer wieder angestoßen werden? In diesem Fall besteht keine feste Phasenbeziehung zwischen ihren Schwingungen und damit auch zwischen den von ihnen ausgesandten Wellen, d. h. ε wechselt unregelmäßig. Nun zeigen die meisten Empfänger für Wellen — beim Licht sogar alle — das Quadrat des Ausschlages u an, das ein Maß der Intensität, d. h. des Energieflusses, ist. Ist der Empfänger sehr träge im Verhältnis zur Kohärenzzeit, d. h. zur Zeit, in der ε festbleibt, so ergibt sich der zeitliche Mittelwert der Intensität. Nun ist

$$\left.\begin{aligned} u^2 &= (a_1 \sin \omega t + a_2 \sin(\omega t + \varepsilon))^2 \\ &= a_1^2 \sin^2 \omega t + a_2^2 \sin^2 (\omega t + \varepsilon) \\ &+ 2\, a_1 a_2 \sin \omega t \sin (\omega t + \varepsilon)\ . \end{aligned}\right\} \quad (2)$$

Bildet man das Zeitmittel, so wird, da $\sin^2 \omega t$ über eine Periode erstreckt $^1/_2$ ist, $\sin(\omega t + \varepsilon) \sin \omega t$ aber verschwindet, in diesem Fall $u^2 = a_1^2 + a_2^2$. Hat dagegen ε einen festen Wert, so kann je nach diesem Wert u^2 zwischen $(a_1 + a_2)^2$ und $(a_1 - a_2)^2$ liegen, d. h. bei Kohärenz sind die Amplituden immer unter Berücksichtigung der Phase zusammenzusetzen und dann das Quadrat der resultierenden Amplitude zu nehmen, bei Nichtkohärenz sind einfach die Intensitäten zu addieren. Der ganze Streit, der um die Abbesche Theorie entbrannt ist, ist lediglich ein Streit um die Berücksichtigung oder Nichtberücksichtigung des Kohärenzgliedes $2\, a_1 a_2 \sin \omega t \sin(\omega t + \varepsilon)$. Hier stellt hauptsächlich Berek[1]) seine Ansicht der „Abbeschen Schule" schroff gegenüber. Wie ist es möglich, daß man in einer so einfachen und scheinbar klar zu entscheidenden Frage von „Richtungen" und „Schulen" reden kann, Begriffe, die der Physik als einer Wissenschaft, die objektive Wahrheiten zu fördern hat, ganz fremd sind? Der Grund liegt, wie wir sehen werden, in der *praktischen Bewertung* der Abbeschen Theorie, deren Richtigkeit von niemand, auch von Berek nicht, angezweifelt wird.

4. Ehe wir näher darauf eingehen, müssen wir die Kohärenzverhältnisse beim Licht betrachten. An Stelle der Stimmgabeln treten die „Atome". Vom freien Atom, wie es in gasförmigen Lichtquellen strahlt, wissen wir aus Interferenzversuchen, daß es kohärente Wellenzüge von 10^{-8} sec Dauer aussendet. Wie sie abklingen, ob etwa ein Wellenzug konstanter Amplitude plötzlich abgeschnitten wird oder ob die Amplitude in Analogie zur makroskopischen Antenne nach einer e-Funktion abklingt, entzieht sich prinzipiell unserer Kenntnis, ist auch fürs Weitere belanglos. Hätten wir nur 2 Atome und könnten wir die Lichterregung in Momentaufnahmen von 10^{-8} sec festhalten, so müßte man auch beim Licht Interferenzen von Wellen beobachten, die von verschiedenen Atomen herrühren. Da man aber weder in so kurzen Zeiten beobachten, noch das von einzelnen Atomen ausgesandte Licht wahrnehmen kann, addieren sich nach oben die *Intensitäten* des von verschiedenen Atomen ausgesandten Lichtes. Interferenz kann daher beim Licht nur zwischen Wellenzügen beobachtet werden, die vom gleichen Atom der Lichtquelle herrühren. Solche Wellenzüge erhält man bekanntlich durch Aufteilung der ursprünglichen Kugelwelle, sei es an einer halbversilberten Glasplatte, sei es durch den Durchtritt durch mehrere Öffnungen. Berek, der sich mit der Kohärenzfrage sehr eingehend beschäftigte, vertritt die Ansicht, daß die Einzelschwingung der Lichtquelle wenigstens die Form einer gedämpften Schwingung von endlicher Kohärenzlänge haben müsse, damit überhaupt Interferenzen zustande kommen. Diese oft ausgesprochene Behauptung, daß nur „periodische" Wellen interferieren können, läßt sich leicht an einem akustischen Beispiel widerlegen. Das Oszillogramm eines Geräusches enthält nichts Periodisches. Trotzdem zeigen die Schallwellen dieses Geräusches Interferenzerscheinungen, die so gedeutet werden, daß man sagt: Das Geräusch ist eine Überlagerung von Schwingungen sehr vieler Frequenzen, und das Fouriersche *Theorem* zeigt auch mathematisch, daß man jede unperiodische Funktion in eine stetige Folge von Sinus-Schwingungen zerlegen kann. Für die *Berechnung* der Interferenzen ist nun zweifellos die Darstellung durch das Fourier-Integral der richtige Weg. Denn damit kann man für jede Teilschwingung den Wegunterschied in Wellenlängen berechnen, der bei Teilung der Welle an einem bestimmten Ort gültig ist. Dem einfachen Ton entspricht in der Optik *monochromatisches Licht*, eine *Linie eines Linienspektrums*, dem Geräusch *Glühlicht* (*Kontinuumspektrum*). Der Unterschied zwischen einfachem Ton und Geräusch ist nur quantitativer Art. Bei einem einfachen Ton erhält man noch Interferenz, d. h. Schwankungen je nach dem Gangunterschied, wenn dieser Tausende von Wellenlängen beträgt, bei einem Kontinuum dagegen überlagern sich die für die einzelnen Wellenlängen geltenden Interferenzen mit steigendem Wegunterschied bis zur Unkenntlichkeit. Nur in der Nähe des Gangunterschieds Null ist für alle Wellenlängen die Phase gleich. Bei Gangunterschieden von mehreren Wellenlängen ist für die eine Wellenlänge gerade Helligkeit, wo für

[1]) M. Berek, Z. Physik **36**, 675, 824 (1926); **37**, 387 (1926); **40**, 420 (1927) — Ges. Naturwiss. Marburg **61**, 251 (1926).

die andere Dunkelheit entsteht. Darüber zu streiten, ob in der Formel für das Fourier-Integral die rechte oder linke Seite den wirklichen Sachverhalt darstellt, ist vollständig müßig. Jede Vorrichtung zum Zerlegen eines Vorgangs, zur Erzeugung von Spektren, stellt einen harmonischen Analysator dar, der das experimentell macht, was der Rechner bei der Koeffizientenbestimmung der Fourier-Reihe bzw. des Fourier-Integrals ausführt. Aus der Tatsache der Interferenz bei kleinen Gangunterschieden läßt sich kein Schluß auf den

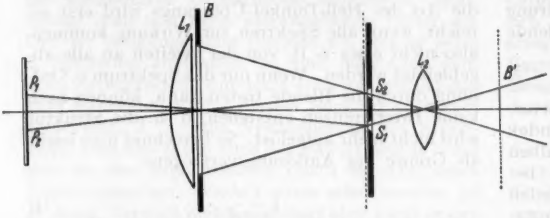

Fig. 2. Versuch zur scheinbaren Kohärenz des Lichts, das von zwei verschiedenen Punkten einer Lichtquelle ausgeht.

Mechanismus der Lichtaussendung ziehen. Je länger die Wegunterschiede sind, bei denen noch Interferenzen wahrgenommen werden, ein desto engerer Spektralbereich wird von der Lichtquelle ausgesandt. Deshalb lassen sich durch Filter auch bei einem Kontinuum Interferenzen höherer Gangunterschiede erzielen, ja man kann die Grenze der Interferenzfähigkeit einer einzelnen Spektrallinie, die oben aus Analogiegründen zur Antennenstrahlung auf die Abklingung zurückgeführt wurde, auch so deuten, daß das Licht der Lichtquelle unendlich lange, also monochromatische Wellenzüge darstellt, die aber über einen gewissen Frequenzbereich verteilt sind. Diese Auffassung ist durch keinen optischen Versuch zu widerlegen[1]), gegen sie spricht lediglich die Analogie mit einer Antenne, die, einmal angestoßen, durch die Ausstrahlung gedämpfte Schwingungen ausführt und damit abklingende Wellenzüge einheitlicher Frequenz aussendet, auf die aber alle Empfänger genau so reagieren wie auf ungedämpfte Wellenzüge mit entsprechender Frequenzverteilung.

Während man bei gasförmigen Lichtquellen sicher ist, daß die freien Atome unabhängige Antennen darstellen, also keinerlei Phasenbeziehung zwischen 2 Atomen besteht, kann man dies bei einem festen Körper füglich bezweifeln, da ja das gesamte Gitter an der Lichtemission beteiligt ist. Man wird daher die Frage stellen, ob nicht innerhalb gewisser Bezirke von angebbarer Größenordnung Kohärenz besteht. Auch diese scheinbar so sinnvolle Fragestellung ist durch den Versuch prinzipiell nicht zu entscheiden. Denn dazu muß man das Licht von 2 Bezirken ausblenden, und bei dieser Ausblendung treten Beugungserscheinungen auf, die um so mehr das von beiden Bezirken kommende Licht vermischen und eine Kohärenz vortäuschen, je kleiner diese Bezirke gemacht werden. Ein äußerst lehrreicher Versuch zeigt, wie selbst bei ganz groben Abständen — mehrere zehntel Millimeter! — scheinbare Kohärenz vorliegt. Ein glühender Platinstreifen (Fig. 2) wird durch die mit der rechteckigen Blende B begrenzte Linse L_1 auf 2 Spalte, S_1 und S_2, abgebildet derart, daß der Teil P_1 auf S_1, der Teil P_2 auf S_2 fällt. Durch eine Linse L_2 wird andererseits ein Bild B' der Blende B erzeugt. Am Rand des Blendenbildes erkennt man klar die bekannte Interferenzfigur, welche 2 Spalte erzeugen, und der Abstand der Interferenzstreifen entspricht der Interferenzerscheinung, welche 2 Spalte im Abstand d hervorrufen (Fig. 3). Also muß man schließen, daß das Licht, das S_1 und S_2 trifft, wenigstens teilweise kohärent ist. Bis dahin ist der Schluß richtig, wenn man aber leichtsinnigerweise weiter schließt, daß das Licht, das von P_1 und P_2 ausgeht, kohärent ist, so begeht man einen Fehler: Am Blendenrand wird nämlich so viel Licht aus dem von P_1 stammenden Bündel nach S_2 abgebeugt, daß man noch eine gut wahrnehmbare Interferenzerscheinung erhält. Denn bedeckt man P_1, so tritt dieselbe Interferenzerscheinung noch deutlicher hervor, weil sie nicht mehr durch Licht von P_1 überlagert ist. Wenn man also auch einen echten Kohärenzbereich experimentell nicht angeben kann, so ist dieser jedenfalls so klein, daß man mit gutem Recht auch bei festen Körpern mit der Inkohärenz der von 2 Lichtpunkten ausgehenden Wellen rechnen kann.

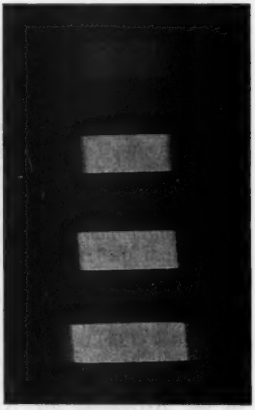

Fig. 3. Photogramm der Interferenzerscheinungen am Rand des Bildes B′ der Blende B bei Versuchsanordnung von Fig. 2. Die Bilder sind mit steigender Belichtungsdauer aufgenommen.

5. Nach dieser Klarstellung der Kohärenz können wir zum eigentlichen Thema zurückkehren, nach der wellenmäßigen Abbildung von Selbstleuchter und Nichtselbstleuchter. Beim Selbstleuchter ist der Vorgang sehr einfach: Von jedem Punkt wird infolge der Beugung an der Aperturblende — im einfachsten Fall am Linsenrand — ein

[1]) Da man sich damit bereits in das Gebiet der HEISENBERGschen Unschärfebeziehung begibt, vgl. z. B. Joos, Lehrb. d. theoret. Physik. 4. Aufl., S. 603. Leipzig 1942.

von Ringen umgebendes Beugungsscheibchen entworfen. Da das Licht, das von den einzelnen Punkten kommt, als inkohärent anzusehen ist, überlagern sich am Bildort einfach die Intensitäten der entstehenden Beugungsscheibchen.

Als Auflösungsvermögen des abbildenden Systems bezeichnet man den kleinsten noch eben trennbaren Abstand ε zweier Punkte. Da man erfahrungsgemäß die Maxima zweier Beugungsbilder dann noch getrennt wahrnimmt, wenn das Maximum der Intensität des zweiten auf das erste Minimum des ersten fällt, ergibt die Durchführung der Beugungsrechnung für eine kreisförmige Blende

$$\varepsilon = 1{,}22 \cdot \frac{\lambda}{2A}, \tag{3}$$

worin λ die Wellenlänge, A die numerische Apertur, definiert durch das Produkt aus Brechungsindex auf der Objektseite und dem Sinus des halben Öffnungswinkels der abbildenden Strahlen bedeutet. Die Rechnungen (vgl. Anhang) werden nun außerordentlich vereinfacht und zeigen trotzdem alles Wesentliche, wenn man sich auf rechteckige Blenden und eindimensionale Fragen, d. h. Objekte, die senkrecht zur X-Achse sehr weit ausgedehnt sind (Spalte, Gitter), beschränkt. In diesem Fall gibt die elementare Rechnung als kleinsten Abstand zweier Lichtlinien

$$\varepsilon = \frac{\lambda}{2A}, \tag{3'}$$

wobei A dieselbe Bedeutung wie oben hat.

Sehr viel verwickelter ist der Vorgang bei der Abbildung des Nichtselbstleuchters. Setzen wir zunächst eine punktförmige Lichtquelle voraus, die sich auch im Unendlichen befinden kann. An den Hell-Dunkel-Grenzen des Objekts tritt bereits Beugung auf, die so modifizierten Wellen werden durch das Objektiv gebrochen. Zudem tritt aber durch die Begrenzung der Objektivöffnung abermals eine Beugung auf. Der Unterschied gegen die Abbildung des Selbstleuchters besteht nun darin, daß das Licht, das durch die einzelnen Hellstellen des Objekts hindurchtritt, kohärent ist, da es von gleichen Punkten der Lichtquelle herrührt. *Die Forderung nach Berücksichtigung der Kohärenz ist der Kernpunkt der* Abbe*schen Theorie.* In welcher Form sie mathematisch durchgeführt wird, ist nebensächlich.

Abbe ging von dem besonders leicht zu behandelnden Fall eines Strichgitters aus, das mit parallelem Licht beleuchtet wird. (Dieses schematisierte Objekt lag damals besonders nahe, weil die Mikroskope fast ausschließlich durch die Auflösung der Diatomeenstreifen auf ihre Leistungsfähigkeit geprüft wurden.) In der Brennebene des Objektivs entstehen neben dem direkten Bild der punktförmigen Lichtquelle eine Anzahl von Beugungsspektren, die sich bei monochromatischem Licht auf einzelne Punkte beschränken. Wie in der Spektroskopie, bezeichnen wir diese Punkte als Spektren 1., 2. Ordnung, wobei wir das direkte Bild als Spektrum 0. Ordnung bezeichnen und die beiden symmetrischen Teile durch das Vorzeichen unterscheiden. Die Gesamtheit der so entstehenden Spektren wurde von Abbe als das eigentliche (primäre) Bild angesehen. Da die Lichterregungen in den verschiedenen Ordnungen miteinander feste Phasenbeziehungen haben — denn sie rühren ja von derselben Lichtquelle her —, so interferieren diese miteinander und geben in der geometrisch-optischen Bildebene eine Helligkeitsverteilung, die in ihren Abständen dem Objektgitter entspricht. Eine völlige Ähnlichkeit auch z. B. in bezug auf die *Art* des Hell-Dunkel-Übergangs wird erst erreicht, wenn alle Spektren zur Wirkung kommen, also nicht etwa z. B. von der zweiten an alle abgeblendet werden. Wenn nur das Spektrum 0. Ordnung durch die Blende treten kann, können auch keine Interferenzen entstehen, d. h. die Struktur wird nicht mehr aufgelöst. So berechnet man leicht als Grenze des Auflösungsvermögens

$$\varepsilon = \frac{\lambda}{A}. \tag{4}$$

ε ist also beim Nichtselbstleuchter doppelt so groß als beim Selbstleuchter. Wenn man aber die Beleuchtung schräg einfallen läßt, derart, daß die 0. Ordnung an einem Blendenrand liegt, kann man die 1. Ordnung noch beim doppelten Abstand fassen, bekommt also eine Struktur mit halbem Abstand noch getrennt und erreicht damit das Auflösungsvermögen, das für Selbstleuchter gilt.

Als eigentliches „Bild" erscheint hier die Gesamtheit der Beugungsspektren. In der Tat können nur gleiche Objekte dieselbe Verteilung von Amplitude und Phase in der Brennebene hervorrufen, und man könnte sich umgekehrt Wege ausdenken, um allein aus der Lichtverteilung in der Brennebene das Objekt zu rekonstruieren.

So sind z. B. die Abstände der Diatomeenstreifen, die für die Arten kennzeichnend sind, aus den Abständen der Beugungsspektren unter Umständen leichter zu ermitteln als im geometrischen Bild. Bei der Ermittelung der Ladungsverteilung in Kristallen, die unter recht erheblichem Arbeitsaufwand aus der Intensitätsverteilung der Röntgeninterferenzen berechnet wird, verfährt man ebenfalls in dieser Weise, und nach Ansicht von Kennern des Gebiets erfolgt die Orientierung der Südseeinsulaner bei ihren Seefahrten nach den Wellenzügen, die als Beugungsbilder der Inseln aufzufassen sind. Wenn also auch die Bezeichnung „Bild" — heute spricht man vielfach von „unähnlicher Abbildung" — für die Beugungserscheinung berechtigt ist, so wollen wir doch im folgenden den Ausdruck für diejenige Lichtverteilung vorbehalten, die beim Übergang zur Wellenlänge Null in das geometrisch-optische Bild übergehen würde. Wichtig für die gedankenmäßige vollständige Rekonstruktion des Objekts ist die Kenntnis der Phasenlage der einzelnen Spektren, die nicht ohne weiteres ermittelt werden kann, da erst Amplitude *und* Phase das Objekt bestimmen. Dies wird mitunter als eine Einschränkung der

Abbeschen Theorie bezeichnet; es ist aber klar, daß Abbe, der ja gerade von der Kohärenz ausging, an die Phase gedacht haben mußte, auch wenn er sie nicht ausdrücklich immer erwähnte.

Die von Abbe am Gitter durchgeführte Betrachtung führt zu experimentellen Folgerungen, die jedem, der sie zum erstenmal sieht, einen tiefen Eindruck machen: Ersetzt man das zuerst betrachtete Gitter durch ein anderes, dessen Abstände halb so groß sind, so sind die Abstände der Spektren in der Brennebene des Objektivs nach der elementaren Gittertheorie doppelt so groß. Bringt man nun beim ursprünglichen Gitter am Ort der Beugungsbilder Blenden an, welche jedes 2. Spektrum abblenden, so muß man nach dem oben entwickelten Grundsatz auch am Bildort das Bild wahrnehmen, das diesem Beugungsspektrum entspricht, d. h. eine Verdoppelung der Strichzahl. Daß dies tatsächlich der Fall ist, wurde lange Zeit als das experimentum crucis der Abbeschen Lehre angesehen. Wie wir unten sehen werden, ist es dieser Versuch nicht, man darf aber nicht in den umgekehrten Fehler verfallen: aus der Tatsache, daß der Versuch nicht beweiskräftig ist, den Schluß ziehen, die Abbesche Theorie sei falsch.

Eine andere, höchst wichtige praktische Folgerung wurde verhältnismäßig spät von Zernike aus der Abbeschen Theorie gezogen. Während wir bisher als Objekt ein Amplitudengitter betrachteten, bei dem helle und dunkle Striche abwechseln, geben sog. Phasengitter noch lichtstärkere vollständige Beugungsspektren. Bei diesen Gittern wechseln Streifen verschiedenen Brechungsindex ab derart, daß das Licht, das am Ort jeden zweiten Strichs durchgetreten ist, eine Phasenverschiebung gegen den Nachbarstrich erlitten hat. Da das ganze Gitter durchsichtig ist, nimmt man in der Bildebene überhaupt nichts wahr, obwohl das Beugungsbild in der Brennebene des Objektivs genau so wie beim Amplitudengitter gleichen Strichabstandes aussieht. Der Grund liegt darin, daß weder Auge noch photographische Platte von den Phasenbeziehungen etwas wahrnimmt. Beim Phasengitter besteht nun eine andere Phasendifferenz zwischen dem Spektrum 0. Ordnung und den anderen. Beseitigt man diesen Unterschied durch Anbringen eines Plättchens geeigneter Dicke, so sieht man das Phasengitter in der Bildebene als Hell-Dunkel-Gitter. Diese Umformung ist nicht auf gitterartige Objekte begrenzt, sondern sie ermöglicht es, z. B. ungefärbte, bisher fast unsichtbar gewesene Lebewesen direkt zu sehen. Über die Leistungen des so geschaffenen Phasenkontrastmikroskops ist vor einiger Zeit ausführlich berichtet worden[1]).

Der Abbeschen Behandlung wurde vorgeworfen, daß sie nur auf strichgitterförmige Strukturen anwendbar sei, man möchte doch eine Darstellung haben, die für jede Struktur gültig ist. In der Tat hat Abbe die Wirkung der Kohärenz an einem sehr augenfälligen und mathematisch ohne viel Rechnung zu bewältigenden Beispiel erläutert. Eine allgemein anwendbare Rechenvorschrift gab bald nach Abbe Lord Rayleigh[1]). In der Abbeschen Darstellung macht man folgende Anwendung des Huyghenssche Prinzips der Wellenlehre:

Bei der Berechnung der Lage der Beugungsspektren überlagert man die von den einzelnen Öffnungen des Gitters ausgehenden Wellen, wobei sich die als Beugungsfigur bezeichnete Lichterregung in der *Brennebene* der Linse ergibt. Die Begrenzung der Öffnung schneidet einen Teil der Beugungsmaxima weg, und das Zusammenwirken der übrigen erzeugt in der *Bildebene* das Bild. In der Rayleighschen Rechnungsweise ist lediglich die Reihenfolge der Addition vertauscht. Zunächst wird von jedem Punkt des Objekts die durch die Objektivbegrenzung bedingte Lichtverteilung („Beugungsfigur") in der *Bildebene* berechnet, dann werden diese Beugungsfiguren unter Berücksichtigung der Kohärenz überlagert. Rayleigh hat auch im Fall des Gitters explizite gezeigt, daß sein Verfahren, wie es nicht anders sein kann, zum gleichen Ergebnis wie das Abbesche führt. Der Vorteil der Rayleighschen Betrachtung liegt darin, daß sie für jede Objektstruktur anwendbar ist, wenn sie auch im Einzelfall viel mehr Rechenarbeit erfordert.

6. Wie kann es kommen, daß ein so klarer Sachverhalt wie die Abbesche Kohärenzforderung überhaupt angezweifelt werden kann? Nun, wir haben bisher mit parallelem Licht, d. h. einer punktförmigen, im Brennpunkt einer Linse stehenden Lichtquelle gerechnet. Hat die Lichtquelle eine endliche Ausdehnung, so tragen Parallelstrahlenbüschel der verschiedensten Richtungen zur Beleuchtung bei. Da die verschiedenen Parallelstrahlenbüschel ihren Ursprung in verschiedenen Punkten der Lichtquelle haben, sind sie nicht kohärent, *soweit nicht durch die Beugungen an den vor dem Objekt liegenden Blenden eine gewisse Kohärenz entstanden ist* (vgl. 4.). Man muß also nach Abbe oder Rayleigh zunächst für jede Beleuchtungsrichtung unter Berücksichtigung der Kohärenz die entstehende Lichterregung in der Bildebene berechnen und dann diese Intensitäten, d. h. die Amplitudenquadrate dieser Erregungen, addieren. Da jede der verschiedenen Beleuchtungsrichtungen wieder andere Phasenbeziehungen mit sich bringt, kann man schon qualitativ erwarten, daß bei einem größeren Öffnungsverhältnis der beleuchtenden Strahlen die Kohärenz im Endeffekt durch die so entstehende Überlagerung („Phasenverschmierung") hinfällig gemacht wird und man sich damit dem Fall des Selbstleuchters nähert. Denn wiederum ist es nur eine Vertauschung der Reihenfolge der Zusammensetzung,

[1]) Köhler u. Loos, Das Phasenkontrastverfahren und seine Anwendung in der Mikroskopie, und Michel, Die Darstellung von Chromosomen mittels des Phasenkontrastverfahrens. Naturwiss. **29**, 51–62 (1941).

[1]) Lord Rayleigh, Phil. Mag. **42**, 167 (1896).

wenn man zunächst gemäß der Kohärenzforderung für jede Richtung der Beleuchtungsstrahlen die Lichtverteilung berechnet und dann die Intensitäten überlagert, oder wenn man gleich wie beim Selbstleuchter so vorgeht, als wäre das Licht, das von verschiedenen Punkten des Objekts kommt, inkohärent. Die Frage ist nur, bei welcher Öffnung der Beleuchtungskegel diese Äquivalenz von Selbstleuchter und Nichtselbstleuchter gültig ist. Daß sie bei allseitig gleichmäßiger Beleuchtung schon aus thermodynamischen Gründen gelten muß,

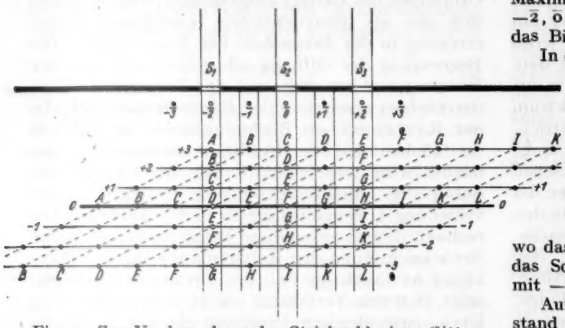

Fig. 4. Zur Verdoppelung der Strichzahl eines Gitters durch Abblenden von Beugungsspektren bei Beleuchtung mit großer Apertur.

hat M. v. Laue[1]) nachgewiesen. Die Lage ist also folgende: Obwohl die Abbesche Kohärenzforderung und damit strenge Unterscheidung zwischen Selbstleuchter und Nichtselbstleuchter den physikalischen Sachverhalt immer richtig darstellt, ergibt sich bei größerer Beleuchtungsapertur dasselbe Resultat wie bei einem Selbstleuchter, bei dem die Rechnung wesentlich einfacher ist. Die Frage, *wann* die Kohärenz berücksichtigt werden muß, ist damit eine quantitative geworden, die eigentlich in jedem Einzelfall für jede Beleuchtungsanordnung und für jedes Objekt gesondert berechnet werden muß. Ehe wir auf den am meisten behandelten Fall zweier eng benachbarter Spalte eingehen, sei eine wichtige Folgerung erwähnt, die Mandelstam[2]) im Jahre 1911 zog: Wenn schon eine einfache Rechnung ergibt, daß die Verdoppelung der Strichzahl bei einem Gitter durch entsprechende Ausblendung noch bei großer Beleuchtungsapertur stattfindet, so muß durch dieselbe Blendenanordnung auch bei einem Selbstleuchtergitter Strichverdoppelung eintreten. Der mit einem glühenden Drahtgitter bzw. Netz geführte experimentelle Nachweis dieser Verdoppelung entwertete die berühmten „Diffraktionsversuche" hinsichtlich ihrer Stellung als experimenta crucis, ohne daß dadurch die Abbesche Lehre etwa widerlegt wäre, wie oft voreilig geschlossen wird. Der Grund für die Verdoppelung liegt beim Selbstleuchter in der Beugung an den wie bei einem Nichtselbstleuchter zur Abblendung eingeschobenen Blenden.

Wie beim Nichtselbstleuchter diese auffallende Verdoppelung der Streifenzahl auch dann zustande kommt, wenn die Lichtquelle so groß ist, daß sich die einzelnen Maxima überdecken, und ein großer mittlerer Teil der Brennebene eine gleichmäßige Beleuchtung zeigt, kann mit Hilfe der schematischen Fig. 4 erklärt werden.

S_1 S_2 S_3 sind die drei Spalte der in der Brennebene der Linse angebrachten Blende. Darunter ist zunächst das von einer kleinen, unendlich fernen Lichtquelle herrührende Beugungsspektrum gezeichnet, das aus sieben Maximis $-\bar{3}$ bis $+\bar{3}$ bestehen soll. Von diesen treten $-\bar{2}$, $\bar{0}$ und $+\bar{2}$ durch die Spalte durch und erzeugen das Bild der verdoppelten Streifung.

In die gleiche Zeichnung ist nun darunter das Spektrum eingezeichnet, das eine Lichtquelle von großer Ausdehnung erzeugt, das also mit anderen Worten bei Beleuchtung mit großer Apertur besteht. Die einzelnen Maxima sind aber nicht in eine Ebene gezeichnet — wie sie tatsächlich liegen —, sondern der Deutlichkeit halber auf sieben verschiedene Ebenen verteilt: man hat sich alle sieben Maxima an die Stelle nahe der Blende zusammengeschoben zu denken, wo das Spektrum der punktförmigen Lichtquelle in das Schema eingezeichnet ist. Diese Maxima sind mit -3 bis $+3$ bezeichnet.

Auf den einzelnen Maximis sind, in gleichem Abstand wie die drei Öffnungen der Blende, kleine weiße und schwarze Kreise eingezeichnet. Soweit erforderlich, sind sie mit den Buchstaben A bis L bezeichnet. Die mit demselben Buchstaben bezeichneten Kreise sind durch schräge, gestrichelte Linien verbunden.

Es liegen also auf den waagerechten, die einzelnen Maxima darstellenden Linien, mit *verschiedenen* Buchstaben bezeichnete Stellen, welche *inkohärentes*, nicht interferenzfähiges Licht aussenden; auf den schrägen, gestrichelten Linien aber die mit *gleichen* Buchstaben bezeichneten Stellen der verschiedenen Maxima, welche *kohärentes*, interferenzfähiges Licht aussenden. Weiße Kreise bezeichnen ferner diejenigen Stellen der Maxima, welche auf die Öffnungen der Blende fallen: für den Aufbau des Bildes kommen sie allein in Betracht.

Die Streifung von doppelter Feinheit kann nun hier, infolge der Interferenz, in zwei Fällen entstehen: erstens dann, wenn durch alle drei Blendenöffnungen kohärentes Licht austritt, zweitens aber auch schon dann, wenn nur durch zwei benachbarte Blendenöffnungen kohärentes Licht austritt. Diese durch Interferenz von kohärentem Licht aus zwei oder drei Maximis entstandenen Bilder der verdoppelten Streifung — wir können sie kurz „Drillings"- oder „Zwillings"-Bilder nennen — überlagern sich zu einem Gesamtbild, das die verdoppelte Streifung deutlich zeigen muß.

Unser Schema zeigt nun folgendes. Solche Drillingsbilder entstehen durch die Interferenz von $E\,(+3)$, $E\,(+1)$, $E\,(-1)$ und $F\,(+2)$, $F\,(0)$, $F\,(-2)$ und $G\,(+1)$, $G\,(-1)$, $G\,(-3)$, wenn wir die interferierenden Stellen in einer leicht verständlichen Weise durch den Buchstaben und die Nummern des Maximums bezeichnen.

Zwillingsbilder aber entstehen durch die Interferenz der Paare $C\,(+3)$, $C\,(+1)$ und $D\,(+2)$, $D\,(0)$ und $H\,(0)$, $H\,(-2)$ und $I\,(-1)$, $I\,(-3)$.

Es sind also im ganzen 7 Drillings- oder Zwillingsbilder, die sich zu einem Gesamtbild der verdoppelten Streifung überlagern.

Außerdem aber beteiligen sich an dem Bild noch die Stellen $A\,(+3)$, $B\,(+2)$, $K\,(-2)$ und $L\,(-3)$. Sie sind inkohärent, jede liefert ein gleichmäßig erhelltes

[1]) M. v. Laue, Ann. Physik (4) 43, 165 (1914).
[2]) L. Mandelstam, Ann. Physik 35, 881 (1911).

Bild der geteilten Gitterfläche ohne Streifung, und diese vier Bilder überlagern die Zwillings- und Drillingsbilder; sie setzen den Kontrast — ähnlich wie ein Schleier — herab, ohne aber die Streifung vollkommen unkenntlich machen zu können.

Wenn wir jetzt als Beispiel einer Durchrechnung von Einzelobjekten zum meistbehandelten Fall eines Doppelspalts zurückkehren, so handelt es sich darum, zunächst ein Maß für die Stellung der Versuchsanordnung zwischen Selbstleuchter und Nichtselbstleuchter zu finden. Lummer hat

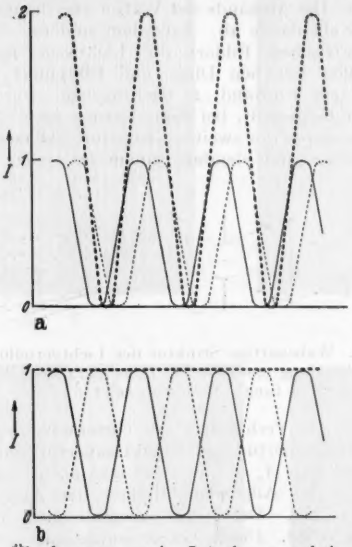

Fig. 5. Überlagerung zweier Interferenzerscheinungen. Schema. Dünn ausgezogen: erste Interferenzerscheinung; dünn gestrichelt: zweite Interferenzerscheinung; stark gestrichelt: Ergebnis der Überlagerung beider *a* im Falle der Konsonanz — der Deutlichkeit halber sind beide Kurven weit getrennt gezeichnet — *b* im Falle der Dissonanz.

zu diesem Zweck den Begriff der Konsonanz und Dissonanz eingeführt, worunter folgendes zu verstehen ist: Eine einfache Interferenzerscheinung geht in ihrem Minimum bis zur Intensität Null herunter. Überlagert sich dieser Erscheinung eine zweite gleicher Periode, gegen diese verschoben, so wird, je nach der Lage, der Unterschied zwischen Maximum und Minimum verstärkt oder geschwächt (Fig. 5), eine Erscheinung, die bei den mit Na-Licht erzeugten Newtonschen Ringen als *„Fizeau-Phänomen"* bekannt ist. Als Konsonanzgrad K wird die Größe

$$K = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \qquad (5)$$

eingeführt. Der Fall $K = 1$ entspricht der strengen Abbeschen Kohärenzforderung, $K = 0$ dem Selbstleuchter. Berek rechnete die Größe K als Funktion des Spaltabstandes und des Verhältnisses der Apertur von Beleuchtung A_b und Objektiv A_o. Der Spaltabstand σ wurde zweckmäßigerweise im Maß der kleinsten auflösbaren Länge λ/A_o angegeben. Dabei ergab sich folgendes Bild:

$K > 2/3$ (praktische Kohärenz)

$\frac{A_b}{A_o}$	0	1/8	1/4	1/2	1
$\sigma \leqq$	∞	2	1	0,5	$\approx 0{,}1$

$K < 1/3$ (praktische Äquivalenz)

$\frac{A_b}{A_o}$	1/8	1/4	1/2	1
$\sigma >$	3	1,6	0,8	$\approx 0{,}1$

Diese Darstellung erweckt den Eindruck, als wäre schon bei sehr kleiner Beleuchtungsapertur die Kohärenzbedingung nur in einem ganz belanglos kleinen Bereich von Wichtigkeit. Es ist aber zu bedenken, daß alle diese Untersuchungen ja nur zu dem Zweck gemacht sind, die Leistungsgrenze des Mikroskops festzustellen, daß also gerade der Bereich um $\sigma = 1$ der allein wichtige ist. Wenn allerdings Abbe geäußert hat, daß der von ihm eingeschlagene Weg ebensogut für Gartenzäune wie für Diatomeenstreifen gilt, so ist dies zwar grundsätzlich richtig, das Ergebnis unterscheidet sich aber bei den Gartenzäunen in nichts von dem der leichter zu handhabenden Selbstleuchterrechnung.

Was das Mikroskop betrifft, so ist aber die praktische Frage der Leistungsgrenze nicht dadurch entschieden, daß man die Verhältnisse aufsucht, bei denen Äquivalenz besteht, sondern man muß untersuchen, bei welcher Beleuchtung die beste Trennung erzielt wird. Neben dem Gitter, für das sich die Frage besonders einfach beantworten läßt, ist der Fall zweier unendlich schmaler, eng benachbarter durchsichtiger Spalte mehrfach Gegenstand der Rechnung gewesen[1]). Mathematisch und physikalisch besonders durchsichtig ist die Behandlung durch Rogestwensky, die in einem mathematischen Anhang wiedergegeben ist. Er berechnet die Intensität (Intensität des Einzelbildes gleich 1 gesetzt) zwischen den Bildern von 2 Spalten mit kritischem Abstand $\sigma = \lambda/A_o$ unter folgenden Voraussetzungen: Aplanatische Abbildung der Lichtquelle ins Objekt, aplanatische Abbildung des Objekts in die Bildebene, rechteckige Blende. Das Verhältnis Beleuchtungsapertur : Objektivapertur erscheint als *Nichtkohärenzfaktor* c, denn je größer c ist, um so mehr sind die Selbstleuchterbedingungen erfüllt. Die Rechnung ist auf sehr große Werte von c ausgedehnt, sie zeigt, daß bei kritischem Abstand die Selbstleuchterverhältnisse erst bei sehr weiter Beleuchtungsapertur gelten. In Wirklichkeit haben für den Praktiker so hohe Werte $c > 1$ wenig Interesse, denn bei der hohen Apertur des Mikroskopobjektivs kann die Beleuchtungsapertur nur dadurch

[1]) H. Siedentopf, Z. Physik **56**, 397 (1929). — v. Citert, Z. Physik **65**, 547 (1930); **69**, 298 (1931). — D. S. Rogestwensky, J. of Phys. USSR **4**, 293 (1941).

wesentlich größer als die Objektivapertur gemacht werden, daß man das Objektiv abblendet. In Fig. 6 ist das Ergebnis dieser Rechnungen als ausgezogene Kurve wiedergegeben. Außerdem ist noch eine gestrichelte Kurve eingezeichnet, die folgende Bedeutung hat: Es ist parallele Beleuchtung, also Beleuchtungsapertur 0, angenommen, der Einfallswinkel zur Objektebene sei α, die Abszisse bedeutet dann für die gestrichelte Kurve das Verhältnis $\sin\alpha$/Objektivapertur. Qualitativ versteht man diese Kurven sofort an Hand der Abbeschen Gitterbetrachtung. Auch dort war das kleinste Auflösungsvermögen bei einheitlicher Be-

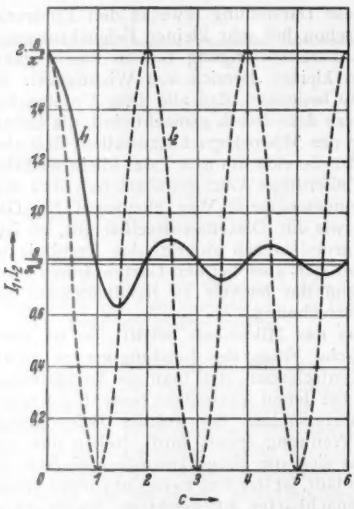

Fig. 6. Ausgezogene Kurve: Intensität zwischen den Bildern von zwei unendlich schmalen Spalten im Abstand λ/A_o als Funktion des Aperturverhältnisses $c = A_b/A_o$. Gestrichelte Kurve: Dasselbe bei einheitlicher Beleuchtungsrichtung als Funktion des Verhältnisses $\sin\alpha/A_o$.

leuchtungsrichtung in Richtung der Mikroskopachse gegeben, während schräge Parallelbeleuchtung bis zu $c = 1$ das Auflösungsvermögen erhöht. (Es leuchtet ein, daß bei großer Apertur ein Wert herauskommt, der zwischen den Extremen für Parallelbeleuchtung liegt.) $c > 1$ bedeutet bei der gestrichelten Kurve Dunkelfeldbeleuchtung. Die Periodizität der Kurve, die ebensogut beim Gitter vorhanden ist, ist so zu verstehen, daß im Gitterfall mit steigender Schräge abwechselnd 2 oder 3 seitliche Beugungsspektren ins Blendenfeld rücken.

7. Im folgenden sollen nun noch einige Einzeleinwände erörtert werden, die insbesondere von Berek gegen die Abbesche Theorie erhoben werden. Berek erklärt, daß der von Abbe behandelte Sonderfall der Gitterabbildung gar nicht die Bezeichnung Abbildung verdient, weil 1. die nach der geometrischen Optik zugeordnete Bildebene gar nicht die einzige ist, in welcher scharfe Maxima und Minima als Gitterbilder entstehen, vielmehr eine von Wolfke[1]) berechnete Wabenstruktur im Bildraum entsteht, deren Schnitt in Fig. 7 (nach Berek) wiedergegeben ist, und weil 2. die Abbildung nicht Punkt für Punkt Bild und Objekt einander zuordnet, sondern nur das ganze Gitter dem ganzen Bilde. Zu 1. ist zu bemerken, daß der Ort des geometrischen Bildes doch eine ausgezeichnete Eigenschaft hat; er ist, Achromasie des Objektivs vorausgesetzt, der einzige Ort, in welchem bei weißem Licht alle Farben zusammenfallen. Die Abstände der Waben aber hängen von der Wellenlänge ab. Außerdem sind nur für den geometrischen Bildort die Lichtwege für alle Strahlen zwischen Ding- und Bildpunkt gleich. Um dem Einwand 2. nachzugehen, wurde ein Gitter hergestellt, bei dem 1 Strich fehlt. Neben dieses wurde ein zweites Gitter mit halber Gitterkonstante und ebenfalls einem fehlenden Strich

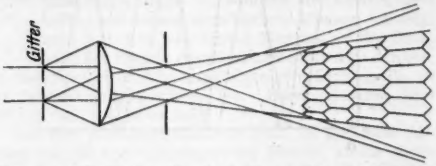

Fig. 7. Wabenartige Struktur der Lichtverteilung bei der Abbildung eines Gitters unter paralleler Beleuchtung. Nach Berek, l. c.

geteilt. Die Verhältnisse von Gitterkonstante, Beleuchtungsapertur und Objektivapertur waren so gewählt ($A_b : A_o = 1/36$), daß man noch sicher im Bereich der Allgemeingültigkeit der Abbeschen Theorie lag. Der Konsonanzgrad nach Berek betrug 0,988. Dieses Gitter wurde mit verschiedenen Einstellungen, von der „Bildebene" ausgehend, mit monochromatischem Licht aufgenommen. Wie man aus Fig. 8 ersieht, tritt die Lücke am Ort des geometrischen Bildes klar hervor. Bei anderen Einstellungen ist sie aber mitunter richtig ersetzt. Die durch extrafokale Einstellung bewirkten Bilder zeigen zum Teil sehr überraschende Züge.

8. Der Praktiker wird nun sagen: „Was sollen alle diese Diskussionen? Ich möchte lediglich eine Anweisung für diejenige Anordnung der Apertur der Beleuchtung, mit der ich das Höchste an Leistung aus dem Mikroskop herausholen kann." Dazu ist folgendes zu sagen: In den Beispielen von Spalt und Gitter gibt ein schräg einfallendes Bündel einheitlicher Richtung, d. h. kleiner Apertur zweifellos am meisten Auflösung. Dabei muß aber die durch Objektivachse und Beleuchtungsrichtung bestimmte Ebene senkrecht zu den Gitterstrichen stehen. Eine enge Apertur mit zur Objektivachse paralleler Richtung gibt nur die Hälfte an Auflösung. Es muß also eine weite Apertur mit zur Objektivachse paralleler Symmetrieachse jedenfalls mehr geben als eine enge.

[1]) M. Wolfke, Ann. Physik 39, 569 (1912); 40, 194 (1913).

Da man es weiter meist nicht mit gitterförmigen oder doppeltspaltähnlichen Objekten zu tun hat, sollte eine möglichst weite, zur Objektivachse symmetrische Beleuchtungsapertur das Beste geben. Durch das dabei auftretende verstärkte Streulicht im Objekt werden aber wieder die Kontraste derart

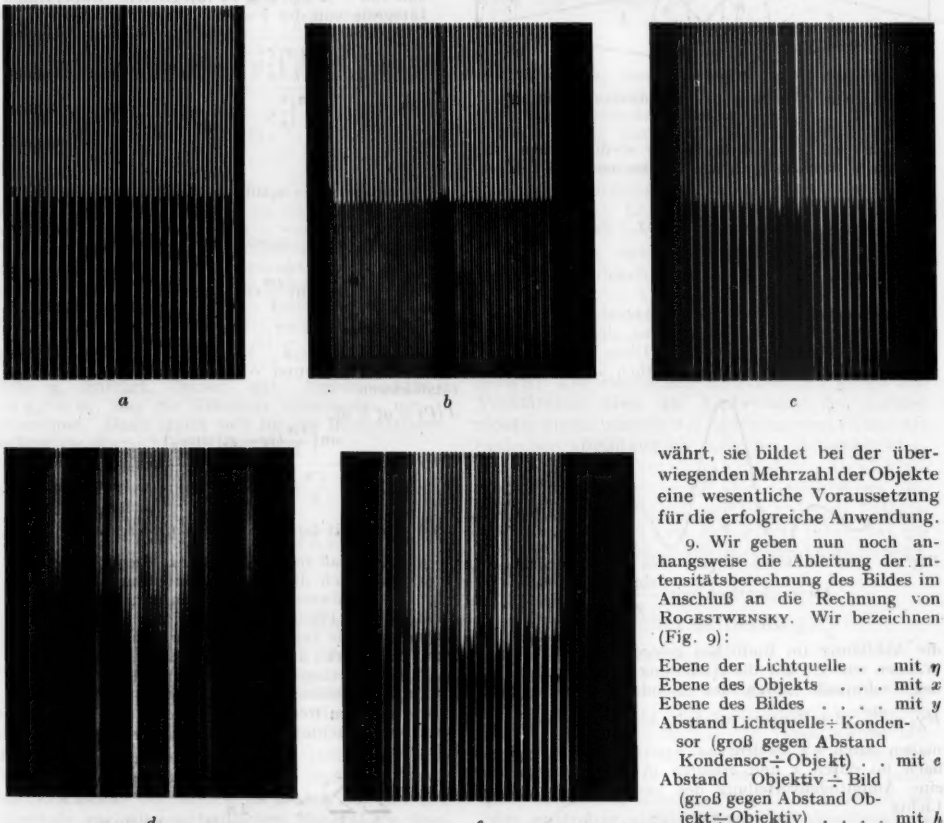

Fig. 8. Bild zweier Gitter mit je einem fehlenden Strich: *a*) bei zusammenfallender Plattenebene mit der Bildebene; *b*), *c*), *d*), *e*) bei allmählicher Entfernung der Plattenebene von diesem Ort. Mikrophotogramme, $\beta = 90 : 1$.

herabgesetzt, daß die theoretisch berechneten Intensitätsabstufungen des Bildes hinfällig werden. Man muß daher einen Kompromiß schließen und zu dem den Praktikern schon lange geläufigen Verhältnis $A_b : A_o \approx 1/3$ übergehen. Man könnte andererseits auch daran denken, den Vorteil schräger Beleuchtung dadurch für alle Richtungen zu sichern, daß man mittels einer Ringblende nur einen dünnen Hohlkegel großer Öffnung zur Beleuchtung benützt. Dies bringt aber einen schwerwiegenden Nachteil mit: Da fast jedes Objekt so dick ist, daß nur ein dünner Schnitt durch das Objekt scharf wird, erhält man von den übrigen Ebenen „Zerstreuungsbilder, die bei ringförmiger Apertur das Bild ungemein verworren machen. Nur beim Phasenkontrastverfahren nach ZERNIKE hat sich diese Art der Beleuchtung durchaus bewährt, sie bildet bei der überwiegenden Mehrzahl der Objekte eine wesentliche Voraussetzung für die erfolgreiche Anwendung.

9. Wir geben nun noch anhangsweise die Ableitung der Intensitätsberechnung des Bildes im Anschluß an die Rechnung von ROGESTWENSKY. Wir bezeichnen (Fig. 9):

Ebene der Lichtquelle . .	mit η
Ebene des Objekts . . .	mit x
Ebene des Bildes	mit y
Abstand Lichtquelle ÷ Kondensor (groß gegen Abstand Kondensor ÷ Objekt) . .	mit e
Abstand Objektiv ÷ Bild (groß gegen Abstand Objekt ÷ Objektiv)	mit h
Halbe Breite der rechteckig begrenzt. Kondensorlinse	mit r
Halbe Breite der rechteckig begrenzten Objektivlinse	mit s
Apertur des Kondensors	mit $A = \sin \varphi_0$
Apertur des Objektivs	mit $A_o = \sin \psi_0$

Nach dem Sinussatz ist $\eta \cdot \frac{r}{e} = x \sin \varphi_0$ (6)

und $x \sin \psi_0 = y \cdot \frac{s}{h}$ (7)

Wir benützen lediglich die aus den Elementen bekannte Amplitudenverteilung der Beugung an einem rechteckigen, in der einen Richtung unendlich ausgedehnten Spalt der Breite $2B$: Ist der Beugungswinkel χ, so ist bei senkrechtem Einfall von parallelem Licht die Amplitudenverteilung

$$A(\chi) = \frac{\sin\frac{2\pi}{\lambda}B\chi}{\frac{2\pi}{\lambda}B\chi}. \qquad (8)$$

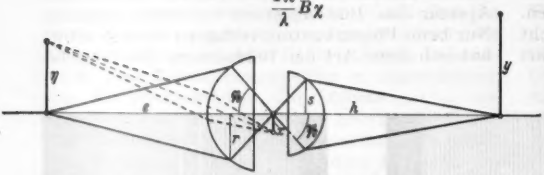

Fig. 9. Zur Ableitung der Intensitätsberechnung.

Die Funktion $A(\chi)$ ist in Fig. 10 wiedergegeben, da wir den Verlauf noch mehrfach brauchen. Bei Einfall unter einem Winkel χ_0 ist

$$A(\chi-\chi_0) = \frac{\sin\frac{2\pi}{\lambda}B(\chi-\chi_0)}{\frac{2\pi}{\lambda}B(\chi-\chi_0)}. \qquad (8')$$

Ferner merken wir an, daß bei Abbildung der Beugungsfigur etwa in der Brennebene einer Linse alle Teile in gleicher Phase schwingen. Diese Fraunhofersche Beugungstheorie gilt bekanntlich auch noch für

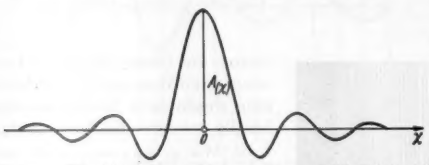

Fig. 10. Die Funktion $A(\chi)$ — bis auf Maßstabsfaktoren identisch mit $\frac{\sin\chi}{\chi}$.

die Abbildung im Endlichen gelegener Lichtquellen. Wenden wir (8′) auf die Abbildung eines Punktes η_i der Lichtquelle durch den Kondensor an, so ist $B\chi_0 = \frac{\eta_i r}{e}$, den Beugungswinkel χ können wir gleichermaßen durch η/e ausdrücken, ersetzen aber η gleich nach (6) durch x und erhalten in der Objektebene eine Amplitudenverteilung des von η_i herrührenden Lichts

$$A(x,\eta_i) = \frac{\sin\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{r}{e}\eta_i - x\sin\varphi_0\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{r}{e}\eta_i - x\sin\varphi_0\right)}. \qquad (9)$$

Wie es sein muß, ergibt sich wegen (6) ein Maximum an dem zu η_i gehörenden geometrischen Bildort x_i. Aber auch die Nachbarschaft von x_i erhält wegen der Beugung noch Licht von η_i, das mit dem Licht in x_i kohärent ist, da es ja vom gleichen Punkt der Lichtquelle kommt.

Wir betrachten jetzt die Interferenz des Lichts, das durch zwei feine von η_i beleuchtete Spalte x_1 und x_2 hindurchtritt, in einem Punkt P, der von diesen Punkten die Abstände l_1 und l_2 hat. Wir wollen gleich den allgemeineren Fall hinzunehmen, daß die Spalte noch mit absorbierenden Schichten bedeckt sind, welche die Amplitude A auf den Bruchteil a_1 bzw. a_2 schwächen. Die Intensität in P ist dann

$$J(P,\eta_i) = a_1^2 A^2(x_1,\eta_i) + a_2^2 A^2(x_2,\eta_i) + 2a_1a_2 A(x_1\eta_i)A(x_2\eta_i)\cos\frac{2\pi}{\lambda}(l_1-l_2). \qquad (10)$$

Will man die Intensität berechnen, die bei Beleuchtung nicht mit einem schmalen Streifen, sondern mit der ganzen ausgedehnten Lichtquelle entsteht, hat man $J(P,\eta)$ mit $d\eta$ zu multiplizieren und von $-\infty$ bis $+\infty$ zu integrieren. Dabei treten Integrale von der Form

$$\int_{-\infty}^{+\infty}\left[\frac{\sin\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{r}{e}\eta - x\sin\varphi_0\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{r}{e}\eta - x\sin\varphi_0\right)}\right]^2 d\eta = \pi \qquad (11)$$

und

$$\int_{-\infty}^{+\infty}\frac{\sin\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{r}{e}\eta - x_1\sin\varphi_0\right)\sin\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{r}{e}\eta - x_2\sin\varphi_0\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{r}{e}\eta - x_1\sin\varphi_0\right)\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{r}{e}\eta - x_2\sin\varphi_0\right)}d\eta = \frac{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}(x_1-x_2)\sin\varphi_0\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}(x_1-x_2)\sin\varphi_0}\pi \qquad (12)$$

auf. Damit wird unter Weglassung aller Proportionalitätsfaktoren

$$J(P) = a_1^2 + a_2^2 + 2a_1a_2\frac{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}(x_1-x_2)\sin\varphi_0\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}(x_1-x_2)\sin\varphi_0}\cos\frac{2\pi(l_1-l_2)}{\lambda}. \qquad (13)$$

Der Faktor, mit dem $2a_1a_2\cos\frac{2\pi}{\lambda}(l_1-l_2)$ multipliziert ist, gibt ein Maß für die Kohärenz. Denn ist er Null, so addieren sich die Intensitäten a_1^2 und a_2^2, hat er seinen Maximalwert 1, so addieren sich unter Berücksichtigung der Phase die Amplituden, das Quadrat der Summe gibt die Intensität. Dieser Faktor nähert sich dem Höchstwert 1 um so mehr, je kleiner $(x_1-x_2)\sin\varphi_0$ ist, d. h. je geringer der Abstand und je kleiner die Öffnung der Beleuchtung ist.

Die weiteren Rechnungen werden sehr vereinfacht, wenn man beachtet, daß (13) sich als Doppelsumme schreiben läßt:

$$J(P) = \sum_1^2\sum_1^2 a_m a_n \frac{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}(x_m-x_n)\sin\varphi_0\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}(x_m-x_n)\sin\varphi_0}\cos\frac{2\pi(l_m-l_n)}{\lambda}. \qquad (14)$$

Nach dieser Vorbereitung ist es einfach, die Verteilung der Intensität in der Bildebene zu berechnen:

Infolge der Beugung an der Objektivbegrenzung entsteht von jeder Linie x_i des Objekts ein Lichtgebirge in der Bildebene, und die einzelnen Lichtgebirge sind unter Berücksichtigung der partiellen Kohärenz nach dem Muster der Gleichung (14) zu überlagern.

Da das Lichtgebirge, das ein Streifen x_1 in der Ebene y erzeugt, nach genau denselben Überlegungen wie oben die Amplitudenverteilung

$$A(y,x_1) = \frac{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{s}{h}y - x_1\sin\psi_0\right)\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{s}{h}y - x_1\sin\psi_0\right)} \qquad (15)$$

erzeugt, ergibt sich durch Summierung der mit den Amplitudenfaktoren a multiplizierten Lichtgebirge unter Berücksichtigung des Kohärenzfaktors die Lichtverteilung in der Bildebene nach dem Muster von (14):

$$J(y) = \int_{x_a}^{x_b}\int_{x_a}^{x_b} a(x_i)\, a(x_k)$$

$$\frac{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{s}{h}y - x_i \sin\psi_0\right)\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{s}{h}y - x_i \sin\psi_0\right)} \frac{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{s}{h}y - x_k \sin\psi_0\right)\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}\left(\frac{s}{h}y - x_k \sin\psi_0\right)} \times$$

$$\times \frac{\sin\left(\frac{2\pi}{\lambda}(x_i - x_k)\sin\varphi_0\right)}{\frac{2\pi}{\lambda}(x_i - x_k)\sin\varphi_0} dx_i\, dx_k . \qquad (16)$$

Die Diskussion dieser im Prinzip die Aufgabe für jede Art Helligkeitsverteilung des Nichtselbstleuchters lösenden Formel wird vereinfacht, wenn man sich diese Verteilung mit einer idealen Abbildungsvorrichtung in die Dingebene zurückabgebildet denkt, d. h. wir ersetzen gemäß der Sinusbeziehung $y\,s/h$ durch $x \sin\psi_0$ und erhalten damit die entsprechende Verteilung $J(x)$ in der Dingebene. Noch übersichtlicher werden die Beziehungen, wenn man $\frac{2\pi}{\lambda}(x - x_i)\ \sin\psi_0$ als neue Veränderliche u_i einführt, ferner das Aperturverhältnis $\sin\varphi_0/\sin\psi_0$, das die Kohärenz entscheidet, mit C bezeichnet. Dann ergibt sich für die Intensitätsverteilung die übersichtliche Beziehung:

$$J(u) = \int_{u_a}^{u_b}\int_{u_a}^{u_b} f(u_i)\, f(u_k)$$

$$\frac{\sin u_i}{u_i}\frac{\sin u_k}{u_k}\frac{\sin C(u_i - u_k)}{C(u_i - u_k)} du_i\, du_k . \qquad (17)$$

Für $C \to 0$ geht $J(u)$ in das Quadrat des Ausdrucks

$$\int_{u_a}^{u_b} f(u)\frac{\sin u}{u} du$$

über, d. h. man hat die Amplituden des Lichtgebirges unter Berücksichtigung der Phase zusammenzusetzen und dann das Quadrat zu nehmen. Für sehr große Werte von C dagegen hat

$$\frac{\sin C(u_i - u_k)}{C(u_i - u_k)}$$

nur für $u_i = u_k$ einen von Null verschiedenen Wert, die Integration läuft darauf hinaus, daß man an jeder Stelle die Amplitudenquadrate überlagert. Mit Hilfe von (17) ist die Kurve von Fig. 6 gezeichnet.

10. *Zusammenfassung:* Erst durch die Kohärenzuntersuchung, die den eigentlichen Inhalt der Abbeschen Lehre darstellt, wird das Wesen der Nichtselbstleuchterabbildung erfaßt. Wenngleich in sehr vielen praktischen Fällen die einfachere Selbstleuchterrechnung zu demselben Ergebnis führt, so kann doch ein Fortschritt nur durch die Kenntnis des wirklichen Sachverhalts gewonnen werden. Man wird der Stellung der Abbeschen Lehre am besten durch einen Vergleich gerecht: Die elastischen Lichttheorien geben alle Verhältnisse über die Ausbreitung des Lichtes richtig wieder, ebenso wie in den meisten Fällen der optischen Abbildung die einfachere Selbstleuchtertheorie genügt. Trotzdem wird durch die elektromagnetische Lichttheorie der Gesichtskreis ungemein erweitert. Daß auch in unserem Fall die vertiefte Kenntnis zum Fortschritt führt, hat die Erfindung des Phasenkontrastverfahrens gezeigt.

Paracelsus und de Boodt als Vorläufer neuzeitlicher Mineralogie.

Von Joh.-E. Hiller, z. Z. Fliegerhorst Neubrandenburg.

Zwei bemerkenswerte Persönlichkeiten begegnen uns zu Beginn der Neuzeit in der Geschichte der Mineralogie: Paracelsus und Boetius de Boodt[1]). Sie begrenzen das letzte Jahrhundert des Teiles der Mineralogiegeschichte, den man besser als Steinkunde bezeichnet, da es sich nur um eine Vorstufe zur wissenschaftlichen Mineralogie handelt, sie sich besonders auch zur Medizin hin erstreckt. So waren es auch in erster Linie Ärzte, die sich mit den Steinen wissenschaftlich beschäftigten. Erst mit der Entdeckung des Gesetzes von der Konstanz der Kristallwinkel durch Nikolaus Stensen und der Doppelbrechung am Kalkspat durch Erasmus Berthelsen im Jahre 1669 wurde die Steinkunde zur Mineralogie.

Boetius de Boodt, der Leibarzt Kaiser Rudolfs II., sammelte in seiner 1609 in Hanau erschienenen „Gemmarum et lapidum historia" das ganze Wissen seiner Zeit samt allem Aberglauben und Irrtümern und machte den Versuch einer tatsächlich kritischen, auf der Erfahrung beruhenden Sichtung. So schuf er ein Werk, das noch 160 Jahre nach seinem Erscheinen von G. E. Lessing als „das unstreitig vollständigste und gewöhnlichste Handbuch in dieser Art von Kenntnissen" bezeichnet wurde. Paracelsus hingegen hat kein größeres zusammenhängendes Werk über die Steine verfaßt. Aus der Zeit von 1525/26 existiert zwar eine kleine Schrift „de mineralibus", die aber ohne größere historische Bedeutung ist. Sonst hat sich Paracelsus nur in Teilen anderer Schriften über die Mineralien geäußert; trotzdem aber erhält in seiner Naturanschauung die Welt der Steine eine bisher unbekannte Wichtigkeit. Für ihn sind die Metalle, Erze, Steine und Edelsteine wichtigstes Rohmaterial zur Arzneibereitung. Dabei wirken sie nach seiner Ansicht nicht im Sinne des Mittelalters und vieler seiner Zeitgenossen zum Teil bis zu de Boodt, der sich auch nur theoretisch davon losreißen konnte, als Amulette oder durch magische Wirkung,

[1]) Über letzteren ist vom Verfasser ausführlich in den Quellen und Studien zur Gesch. der Naturw. u. Medizin. Bd. 8, S. 1—215, Berlin 1941 berichtet worden. Über „Mineralogie und mineralische Heilmittel bei Paracelsus" soll demnächst eine Arbeit veröffentlicht werden.

sondern durch ihre chemische Zusammensetzung. Daher ist Paracelsus gewissermaßen ein Vorläufer der chemischen Mineralogie, die sich an den durch die beiden vorerwähnten physikalischen Entdeckungen begonnenen und charakterisierten ersten Zeitabschnitt der Mineralogiegeschichte anschließt und deren von Werner vorbereitete und von Berzelius ausgebaute Systematik noch heute gebräuchlich ist.

Nach Paracelsus bestehen die Mineralien wie alle Gegenstände chemisch aus den drei Elementen Mercurius, Sulphur und Sal. Es sind dies Elemente, die in den Stoffen Quecksilber, Schwefel und Salz zwar jeweils in hervorragendem und ausschlaggebendem Maße vertreten sind, sonst aber mit diesen Stoffen selbst nichts zu tun haben. Sie stellen die Teile eines Substanz dar, die Paracelsus mit dem stärksten ihm zur Verfügung stehenden chemischen Eingriff, dem Feuer, trennen konnte. Mercurius ist der flüchtige, sublimierbare Teil einer Substanz, Sulphur der verbrennbare Teil und Sal der unverbrennbare Rückstand. Alle Körper sind aus diesen drei Elementen zusammengesetzt, und es gibt daher jeweils unendlich viele Arten Mercurius, Sulphur und Sal. Ohne die Mineralien in ihre Elemente zu zerlegen, kann man auch einzelne Substanzteile — wir würden modern Radikale sagen — abscheiden. Diese Radikale sind die chemisch-therapeutischen Wirkstoffe der Mineralien und durch ihre Gewinnung wird der Erfolg bei ihrer Anwendung als Arzneimittel vervielfacht. Paracelsus bezeichnet sie als Quinta essentia, Arcanum, Tinctura usw., und ihre Herstellung ist die vornehmste Aufgabe der Alchemie. Auf dieser Reingewinnung therapeutisch wirksamer Verbindungen aus Mineralien beruht ein großer Teil der Heilerfolge des Paracelsus, die ihm den Ruf eines Wunderarztes verschafften; hinzu kam natürlich noch jenes Fluidum ärztlicher Intuition, das zum Wesen jedes großen Arztes gehört.

Von Jugend auf hegte Paracelsus großes Interesse für Bergbau und Hüttenwesen und hatte auf seinen Reisen alle wichtigen Stätten mitteleuropäischen Bergbaus kennengelernt. Dadurch besaß er eine umfassende Mineralkenntnis und war genau mit den verschiedenen Gewinnungs- und Verhüttungsmethoden vertraut. Durch das Fehlen jeder streng logischen Systematik und durch oft etwas eigenwillige Namengebung ist jedoch seine Mineralkenntnis für die Entwicklung der Steinkunde nur wenig fruchtbar geworden. Er teilt die Mineralien und Gesteine in fünf Gruppen ein: 1. Salze, 2. Metalle (zu diesen gehören auch metallische bzw. erzähnlich aussehende Mineralien, aus denen sich aber kein Metall gewinnen ließ, die Cachimien und Markasite. Es waren dies wohl vielfach Kobalt-, Nickel-, Wismutmineralien u. a. m.), 3. Steine (Marmor, Alabaster, Bimsstein, Felsen, Sand, Calcedon usw.), 4. Gemmen (Edel- und Halbedelsteine), 5. Harze (hierunter gehören außer Bernstein und Erdpech noch Salpeter, Ocker, Speckstein, Spießglanz, Korallen usw.).

Die nutzbaren Eigenschaften der Mineralien sind immer mit der Farbe verbunden, weshalb diese auch stets bei der Gewinnung eines Arcanum oder der Quinta essentia in diese hineingeht, während der Rückstand meist farblos ist. Dieser Überschätzung der Farbe steht eine Unterschätzung der Form gegenüber. Wir finden nur sehr allgemeine kristallographische Angaben, daß die einzelnen Mineralien verschiedene Form haben, daß der Pyrit und der Granat eckig sind usw.

Interessanter und modern anmutend sind dagegen seine Vorstellungen über die Bildung und Entstehung der Mineralien aus einer Urmaterie mit Hilfe des Archeus terrae, der Personifizierung einer ordnenden Naturkraft. Die Einzelabsonderung der Mineralien geschieht in der Form einer magmatischen Differentiation. Hierbei geht die Verteilung der ausgeschiedenen Mineralien entlang den Verzweigungen der unterirdischen Wasserläufe, und man merkt dabei deutlich, wie die Beobachtung der hydrothermalen Erzgänge und ihrer Salbänder diesen Anschauungen zugrunde liegt. Auch an magmatische Injektionen wird man bei der Schilderung der Mineral- und Lagerstättenbildung oft erinnert. Daneben führten seine Untersuchungen der Heilquellen nach chemischen und medizinischen Gesichtspunkten zu durchaus richtigen Vorstellungen über Sedimentation, Inkrustationen und Versteinerungen.

Die magische Wirkung der Edelsteine als Amulett- und Zaubermittel lehnt Paracelsus im Prinzip nicht ab, wie er überhaupt viel altüberlieferten Aberglauben übernimmt, ihn allerdings meist in sehr individueller Art ausdeutet und in sein mystisch-naturphilosophisches System einordnet. Dieses naturphilosophische Weltbild ist in vielen seiner Gedankengänge das Primäre und der Aufbau seiner Theorien daher vielfach deduktiv trotz unermüdlicher Betonung der Wichtigkeit von Experiment und Erfahrung.

In diesem Punkte trifft sich Paracelsus mit de Boodt. Nur ist dieser von viel geringerer Originalität und wurzelt noch mehr in mittelalterlichen Anschauungen, auch steht seine Weltanschauung noch völlig unter dem Einfluß des katholischen Dogmas, und sein Stil und Gedankengang ist noch typisch scholastisch. Für die Geschichte der speziellen Mineralogie ist sein Werk aber ergiebiger als das des Paracelsus. Wie dieser verläßt auch er grundsätzlich die ausgetretenen Pfade mittelalterlicher Lapidarien. Als neue literarische Quellen — Paracelsus zitiert niemals andere mineralogische Schriften — kommen jetzt bereits die Forscher der auch für die Naturwissenschaften beginnenden Neuzeit in Frage. Besonders bemerkenswert wegen ihrer Mitteilungen aus überseeischen Ländern sind der Spanier Monardes und Garcias ab Horto, der Leibarzt des Vizekönigs von Indien, daneben natürlich die schönen und grundlegenden Schriften Agricolas über Bergbau und Mineralogie.

Während Paracelsus die Möglichkeit magischer Kräfte der Edelsteine anerkennt, sie selbst

aber nicht in diesem Sinne als Heilmittel benutzt oder empfiehlt, überrascht uns bei DE BOODT der verhältnismäßig breite Raum, den er den Steinen als Heilmittel einräumt, während er sonst den ihnen zugeschriebenen übernatürlichen „Kräften" recht skeptisch gegenübersteht. In der Theorie bricht er völlig mit dem Glauben an solche Kräfte, und diese Einstellung, die endgültig mittelalterlichen Autoritäts- und Wunderglauben ablehnt, macht die große Bedeutung DE BOODTS für die Geschichte der Mineralogie aus.

Er hat eine Reihe physikalischer Merkmale richtig beobachtet und dargestellt, bringt aber diese moderne Betrachtungsweise nicht systematisch zur Anwendung. Eine solche Beobachtung macht er z. B. bei der Härte, die er in fünf Grade einteilt. Ferner sucht er Erklärungen für die magnetischen und reibungselektrischen Erscheinungen wie auch für eine große Zahl optischer Probleme, die hier zum ersten Male sorgfältig behandelt werden. Auf allen diesen Gebieten, ebenso bei der Frage des spezifischen Gewichts, kann er manchen Fortschritt verzeichnen. In der Kristallographie sind die Beobachtungen zahlreicher als bei PARACELSUS. Erwähnt werden solche am Bergkristall, Diamant, Beryll, Flußspat und zum Teil beim Granat. Bei den Gesteinen beschreibt er u. a. ausführlich den Basalt mit einer Abbildung der Säulen.

Beide Forscher sind typische Vertreter des Überganges von mittelalterlicher zu neuzeitlicher Naturwissenschaft. Neben AGRICOLA sind sie die einzigen Persönlichkeiten unter den Schriftstellern, die sich in dieser Frühzeit mineralogischer Forschung mit den Steinen als interessanten, beschreibenswerten und wertvollen Naturobjekten befaßt haben. Deshalb sind sie würdig, in der Geschichte der Mineralogie ihren Platz zu finden.

Kurze Originalmitteilungen.

Für die kurzen Originalmitteilungen ist ausschließlich der Verfasser verantwortlich.

Über die Bindung „natürlicher" und „unnatürlicher" Peptidasen in tierischen und Krebszellen[1]).

Über die Art und Stärke der Bindung der Peptidasen (Di- und Aminopeptidasen) in tierischen und Krebszellen ist nichts bekannt. Und doch wäre es aus verschiedenen Gründen wichtig, darüber Näheres zu wissen. Wir haben deshalb versucht, Einblick in die Bindungsverhältnisse „natürlicher" und „unnatürlicher" Peptidasen in Leber-, Nieren- und Krebszellen zu erhalten. Unsere Aussage darüber gründet sich auf die Wasserlöslichkeit dieser Enzyme in möglichst *rasch* oder *schonend* getrockneten Präparaten aus Kaninchen-, Meerschweinchen- und Rattenlebern und -nieren und aus Mäusecarcinom (Stamm EHRLICH).

Zur *raschen* Entwässerung der Gewebe wurde *Aceton* benutzt und im P_2O_5-Exsiccator nachgetrocknet[2]), zum *schonenden* Entwässern wurden die in Scheiben zerschnittenen Lebern, die Nieren in toto nach ihrem *Einfrieren* in festes Kohlendioxyd über P_2O_5 im Hochvakuum getrocknet. Das Trockenmaterial ließ sich mit dem Pistill durch ein feines Seidensieb reiben und so, ohne allzu lange und stark mechanisch beansprucht zu werden (was Enzymverluste bewirken kann), in staubfeiner Form gewinnen. Besonders leicht ging dies mit den auf die letzte Art entwässerten Geweben.

Die Bestimmung des peptidatischen Wirkungsvermögens von Organ- und Carcinompulvern ist bei einiger Sorgfalt ebensogut möglich wie diejenige des Wirkungsvermögens wäßriger und glycerinhaltiger Auszüge. Anstatt zu pipettieren wiegt man die anzuwendende Menge des Pulvers ins Meßkölbchen ein und hat nur durch Schütteln im Thermostaten für eine gute Durchmischung der Suspension zu sorgen. Dabei geht allmählich ein gewisser, mit der Versuchsdauer zunehmender Anteil der Peptidasen in Lösung: Man mißt demnach bei Verwendung von Organ- und Tumorpulver die Wirkung von in die Flüssigkeit diffundierten Peptidasen in Anwesenheit der Gewebsreste und von noch an diesen haftenden Peptidasen. Um bei der Extraktion der Organ- und Carcinompulver Vorgänge möglichst hintanzuhalten, die zur Lockerung der Bindung führen könnten, zogen wir sie nur kurz mit Wasser (1 : 10) aus, nämlich 30 Minuten lang bei 40° und einem p_H von etwa 8 unter gelindem Schütteln. Bei Zimmertemperatur oder 0° mit dest. Wasser, wobei sich das p_H auf ungefähr 6,5 einstellt, waren die Ergebnisse gleichsinnig und in bezug auf Enzymausbeute kaum geringer. Die staubfeinen Pulver wurden so *dreimal* ausgezogen, worauf wir den Gewebsrückstand, dessen Menge bei den einzelnen Organen ziemlich wechselte, entweder einmal kurz mit Aceton verrührten und dann im P_2O_5-Exsiccator oder (ohne Acetonbehandlung) im gefrorenen Zustand sofort über P_2O_5 im Hochvakuum trockneten, um ihn danach wieder durch das Sieb zu reiben.

Bestimmt und verglichen wurde das peptidatische Wirkungsvermögen des Ausgangspulvers, der drei Auszüge und des (nach der Extraktion) verbleibenden Gewebsrückstandes. Gleichzeitig prüften wir dabei das Verhalten der in den verschiedenen Präparaten vorliegenden Peptidasen gegen bestimmte Metalle bzw. die Kombination Metall + Cystein und in einigen Versuchsreihen auch ihr Verhalten gegen Komplexbildner wie Blausäure, Cystein, Pyrophosphat und Fluorid. Dadurch konnten vielleicht Unterschiede zwischen den Peptidasen der verschiedenen Präparate in bezug auf ihre Wirksamkeit und deren Steigerung durch Metall bzw. Metall + SH sowie deren Hemmung durch Komplexbildner aufgedeckt werden. Es war denkbar, daß z. B. vorhandene Desmo-peptidasen, ähnlich wie das Desmo-kathepsin[1]), vollaktiv sind, d. h. keiner Ergänzung durch Metall bzw. Metall + SH mehr bedürfen.

Die Ergebnisse dieser Versuche, die hier nur durch zwei Beispiele in den Tabellen 1 und 2 belegt werden können, lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: 1. In der *Leber* des Kaninchens, Meerschweinchens und der Ratte können die nachgewiesenen „natürlichen" Peptidasen nur schwach gebunden vorliegen, da sie sowohl aus dem mit Aceton als auch aus dem im gefrorenen Zustand über P_2O_5 getrockneten Leberpulver unter den beschriebenen Bedingungen mit Wasser schon bei der ersten Extraktion fast vollständig herausgelöst werden. Man hat sie demnach als *Lyo*-enzyme zu bezeichnen. Von den untersuchten „unnatürlichen" Dipeptidasen, den d-LG.-, G-d-L.- und G-d-A.-spaltenden[2]), enthalten die Lebern der genannten Tierarten nur wenig oder keine G-d-A.-Peptidase, dagegen verhältnismäßig merkliche Mengen d-LG.- und große Mengen G-d-L.-Peptidase. Diese lassen sich aus den durch „Gefrier-Vakuum-Trocknung" gewonnenen Geweben mit Wasser weitgehend ausziehen: Auch sie sind also *Lyo*-enzyme. In den mit *Aceton* behandelten Geweben ist die d-LG.-Peptidase

[1]) XVI. Mitt. Zur Kenntnis tierischer Peptidasen; XV. Mitt. Biochem. Z. (im Druck).

[2]) Über den Einfluß der Acetontrocknung von Geweben auf die Peptidasen, vgl. XIV. Mitt. dieser Reihe. Biochem. Z. (im Druck).

[1]) R. WILLSTÄTTER u. M. ROHDEWALD, Hoppe-Seylers Z. 208, 258 (1932).

[2]) Über diese Peptidasen vgl. VI. Mitt., Naturwiss. 29, 518 (1941); X. Mitt. Biochem. Z. 311, 252 (1941/42); XIII. Mitt. Biochem. Z. (im Druck).

noch *gut wasserlöslich*, die G-d-L.-Peptidase aber *teilweise unlöslich*. 2. In der *Niere* sind die Peptidasen im allgemeinen etwas *fester* gebunden als in der Leber und auch im Mäusecarcinom. Bei ihr treten auch deutlich Unterschiede in der Löslichkeit der einzelnen Peptidasen auf. Immerhin wird dem *schonend*, also im gefrorenen Zustand über P_2O_5 getrockneten Gewebe der größere Teil seiner „natürlichen" und „unnatürlichen" Enzyme durch Wasser entzogen, so daß auch die Nieren-peptidasen zu den *Lyo*-enzymen zu rechnen sind. Dagegen sind diese in den mit *Aceton* entwässerten Nierenpräparaten viel fester gebunden, denn die nach dreimaliger Extraktion verbleibenden Gewebsreste erweisen sich noch als ziemlich peptidatisch wirksam. Die Lyo-peptidasen sind durch die Acetonbehandlung teilweise Desmo-peptidasen geworden. 3. Die auf beide Arten entwässerten Mäusecarcinomzellen geben alle „natürlichen" und „unnatürlichen" Peptidasen, von denen sie viel weniger enthalten als die Leber und Niere der genannten Tierarten, leicht, schon bei der ersten Extraktion so gut wie vollständig, an Wasser ab. Die Mäusecarcinom-peptidasen sind demnach in der Hauptsache oder ausschließlich *Lyo*-enzyme, also ebensowenig in der Zellstruktur „verankert" wie das „Kathepsin"[1]), das man durch seine Wirksamkeit gegenüber Gelatine und Clupein und deren Steigerung durch Cystein usw. kennzeichnen kann. Diese Tatsache verdient auch im Hinblick auf eine Bemerkung, die F. Kögl und H. Erxleben[1]) im Zusammenhang mit ihrer Geschwulsttheorie gemacht haben, einige Beachtung. 4. Die Peptidasen im Auszug, die in Anwesenheit von Gewebsresten und die an diese noch gebundenen Peptidasen unterscheiden sich nicht in bezug auf ihr Wirkungsvermögen und das daraus abzuleitende Spaltungsverhältnis, auf ihre Aktivierbarkeit durch Metall bzw. Metall + SH und auf ihre Hemmbarkeit durch Komplexbildner.

Den Ergebnissen ist zu entnehmen, daß die größtenteils lockeren intracellulären Bindungen der Peptidasen beim raschen Entwässern der Gewebe durch Aceton scheinbar fester werden. In Wirklichkeit aber sind unseres Erachtens die Peptidasen nur deshalb schwerer löslich bis unlöslich geworden, weil Proteine, mit denen sie gerade in näherer Beziehung stehen und die sonst mit in Lösung gehen, infolge Denaturierung schwer oder unlöslich geworden sind. Diese Vorgänge sind bei der Niere besonders ausgeprägt, bei der Leber nur bei den „unnatürlichen" Peptidasen deutlich, während beim Mäusecarcinom nichts dergleichen zu beobachten ist. Dies unterschiedliche Verhalten der einzelnen Peptidasen in den verschiedenen Geweben bei der Acetoneinwirkung deutet darauf hin, daß die mit ihnen vergesellschafteten Proteine nicht nur „organverschieden" sind, sondern auch „enzymverschieden" sein können.

Bei der Beurteilung der Spaltungswerte in den Tabellen ist zu beachten, daß die Peptidasen bei der Acetontrocknung

[1]) E. Maschmann u. E. Helmert, Hoppe-Seylers Z. **216**, 141, 161 (1933).

[1]) Hoppe-Seylers Z. **258**, 57 (1939), und zwar S. 89.

Tabelle 1. Löslichkeit „natürlicher" und „unnatürlicher" Peptidasen der Meerschweinchenleber.

Das Organ wurde nach seiner Herausnahme aus dem Tier sofort in mehrere Scheiben zerschnitten, diese wurden in festes CO_2 gepackt und im durchgefrorenen Zustand im Hochvakuum über P_2O_5 getrocknet, was nach ungefähr 6 Stunden der Fall war. Das getrocknete Material ließ sich leicht staubfein pulvern. Es wurde wie beschrieben dreimal mit Wasser (1 : 10) extrahiert. Der Gewebsrückstand, der noch rund 40% vom Ausgangsmaterial betrug, wurde wieder im gefrorenen Zustand über P_2O_5 getrocknet.

Versuchsbedingungen: Vol. der Ansätze 5 ccm; $p_H = 8$; $t = 40°$. Spaltungsdauer bei der Bestimmung „natürlicher" Peptidasen 1, bei der „unnatürlicher" 20 Stunden. Titrationsprobe 2 ccm. Da, wo Metall + Cystein zugesetzt war, wurde die Luft aus den Kölbchen durch N_2 verdrängt und die Flüssigkeit mit Toluol überschichtet. Trotzdem war die SH-Reaktion in den „Pulveransätzen" nach 20 Stunden nur noch eben angedeutet. Vielleicht spielt bei der SH-Oxydation (die in „Auszugsansätzen" bei weitem nicht so groß ist) Kupfer eine Rolle. Die Konzentration der Metalle bzw. der Kombination Metall + Cystein war die von uns schon mehrfach angegebene.

Wir weisen besonders darauf hin, daß vom (extrahierten) Gewebsrückstand, obwohl er ungefähr 60% an Gewicht abgenommen hatte, die gleiche Menge wie vom Ausgangspulver genommen wurde.

2,40 bzw. 2,00 ccm $^n/_{20}$-KOH entsprechen einer 50proz. Spaltung der racemischen Dipeptide und von GG. bzw. Tripeptide und von GGG., 1,20 ccm einer 100proz. von d-LG.

Präparat	Angewandte Menge mg/ccm	Zusätze	*Spaltung* (ccm $^n/_{20}$ KOH)					
			LG.	AG.	GG.	LGG.	AGG.	GGG.
Leberpulver	LG. = 10	—	0,41	0,95	0,18	0,81	1,02	0,44
	AG. = 2,5	Mg		1,21		1,02		
	GG. = 3,3	Mn	1,04			1,19		
	LGG., AGG.	Co			0,89			
	GGG. = 15	Zn	1,06			0,83		
Auszug I	LG. = 0,10	—	0,33	0,88	0,20	0,70	0,96	0,34
	AG. = 0,025	Mg		0,99		0,94		
	GG. = 0,033	Mn	0,89			1,06		
	LGG., AGG.	Co			0,75			
	GGG. = 0,15	Zn	0,98	1,10		0,73		
Auszug II	Mengen wie beim Auszug I	—		0,07			0,02	0,07
		Mn	0,08			0,19		
		Co			0,10			
Pulverrückstand	Mengen wie beim Leberpulver	—	0,02	0,01	0,03	0,02	0,04	0,00
		Mg		0,03		0,04		
		Mn	0,04			0,12		
		Co			0,02			
		Zn	0,04	0,04				

			d-LG.	G-d, l-L.	G-d, l-A.
Leberpulver	d-LG. = 6	—	0,06	3,86	2,33
	GL. = 3	Mn + SH	0,72		2,43
	GA. = 12				
Auszug I	d-LG. = 0,06	—	0,05	3,87	2,41
	GL. = 0,03	Mn + SH	0,65		2,44
	GA. = 0,12				
Pulverrückstand	Mengen wie beim Leberpulver	—	0,02	0,39	0,19
		Mn + SH	0,03		0,27

Tabelle 2. Löslichkeit „natürlicher" und „unnatürlicher" Peptidasen des Mäusecarcinoms.

Das von makroskopisch sichtbaren nekrotischen Anteilen befreite Gewebe mehrerer Mäusecarcinome (Stamm EHRLICH) einer Impfreihe wurde sofort mit ungefähr 5 Tl. Aceton kurz behandelt, abgesaugt, nochmals mit Aceton kurz geschüttelt und die Gewebsreste im P_2O_5-Exsiccator nachgetrocknet. Das entwässerte Material wurde durch ein Seidensieb gerieben und so staubfein gepulvert. Die Extraktion (dreimal) geschah wie beschrieben. Die verbleibenden Gewebsreste schüttelte man kurz mit Aceton und trocknete sie im Exsiccator.

Versuchsbedingungen wie in Tabelle 1. Auch hier wurde, obwohl vom Ausgangspulver mehr als 50 % in Lösung gegangen waren, vom extrahierten Pulverrückstand ebensoviel wie vom Ausgangspulver angewandt.

Präparat	Angewandte Menge	Zusätze	*Spaltung* (ccm $^n/_{10}$ KOH)					
			LG.	AG.	GG.	LGG.	AGG.	GGG.
Carcinompulver	Bei allen Substraten 20 mg	—	0,07	1,21	0,22	0,39	0,16	0,12
		Mg		1,10				
		Mn	1,01			1,07		
		Co			0,88			
Auszug I	Überall 0,20 ccm	—	0,15	1,08	0,20	0,34	0,15	0,07
		Mg		1,11				
		Mn	0,89			0,71		
		Co			0,76			
Auszug II	Wie beim Auszug I	—		0,13			0,02	0,00
		Mg						
		Mn	0,06			0,22		
		Co			0,10			
Carcinompulver-rückstand	Wie beim Carcinompulver	—	0,03	0,04	0,03	0,07	0,02	0,03
		Mg		0,04				
		Mn	0,02			0,09		
		Co			0,11			
			d-LG.	G-d, l-L.	G-d, l-A.			
Carcinompulver	d-LG. = 20 mg	—	0,03	3,39	1,40			
	GL. = 10 „	Mn+SH	0,44					
	GA. = 20 „							
Auszug I	d-LG. = 0,20 ccm	—	0,04	3,44	1,27			
	GL. = 0,10 „	Mn+SH	0,31					
	GA. = 0,20 „							
Carcinompulver-rückstand	Wie beim Carcinompulver	—	0,01	0,07	0,12			
		Mn+SH	0,02					

im Gegensatz zu der „Gefrier-Vakuum-Trocknung" auch in ihrer Wirksamkeit mehr oder minder geschädigt werden: die AG.-spaltende Dipeptidase stärker als die anderen Dipeptidasen, am stärksten jedoch die AGG.- und GGG.-Aminopeptidasen, welche weitgehend zerstört werden[1]).

Frankfurt a. M., Biochemische Abteilung des Forschungsinstitutes für Chemotherapie, den 5. Juli 1942.

ERNST MASCHMANN.

[1]) Vgl. dazu unsere XIV. Mitt. Zur Kenntnis tierischer Peptidasen. Biochem. Z. (im Druck).

Über den Einfluß der Temperatur auf die Spannung von Glaselektrodenketten für die p_H-Messung.

Über die Temperaturabhängigkeit der für die p_H-Messung immer wichtiger werdenden Glaselektroden sind der Literatur bis heute nur uneinheitliche und unvollständige Mitteilungen zu entnehmen[1]). Um die Kenntnisse auf diesem Gebiet zu erweitern, haben wir systematische Untersuchungen über die Temperaturabhängigkeit von Glaselektroden angestellt. Die im folgenden mitgeteilten Ergebnisse wurden an Glaselektroden der Firma Schott und Gen., Jena, gewonnen, und zwar an Glaselektroden aus „Schottglas 4073^{III}" von rund 2 Megohm innerem Widerstand, sowie an Elektroden aus einem hochleitenden Sonderglas von rund 0,2 Megohm innerem Widerstand. Die Elektroden hatten $^n/_{10}$ HCl-Füllung und Ag—AgCl-Ableitungen. Die EMK gegenüber einer gesättigten KCl-Kalomelelektrode wurde in verschiedenen Pufferlösungen mit verschiedenen p_H-Werten bei verschiedenen stationären Temperaturen nach gehöriger Wartezeit durch Spannungskompensation gemessen. Die Vergleichselektrode wurde auf konstanter Temperatur gehalten. Es wurden Pufferlösungen benutzt, deren p_H-Werte nach den Untersuchungen WALBUMS[2]) sich nicht mit der Temperatur ändern. Durch diese Messung ist somit der Einfluß der Temperatur auf die EMK der Kombination Glaselektrode und Ableitung isoliert, wenn man annimmt, daß die einzelnen Temperatureinflüsse sich linear überlagern, was für kleine Temperaturbereiche sicherlich vorausgesetzt werden kann und im übrigen in der Literatur auch niemals bezweifelt worden ist[3]).

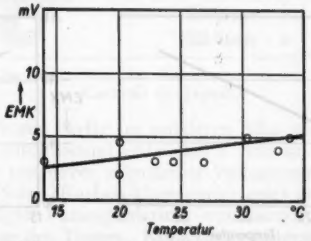

Fig. 1a. EMK einer hochohmigen Glaselektrodenkette in Abhängigkeit von der Temperatur, Glaselektrodenfüllung $^n/_{10}$-HCl-Lösung; Ableitung Ag—AgCl-Elektrode, Meßflüssigkeit $p_H = 1{,}93$ (Zitrat-HCl-Puffer).

[1]) Vgl. z. B. SCHWABE, Zellstoff u. Papier 1939, Nr 9. — WULFF, Die Glaselektrode und ihre Anwendung, in: Die Methoden der Fermentforschung. Leipzig: Georg Thieme. — KRATZ, Über Aufbau und Potential von Glaselektrodenketten, Vorzeichennormierung und direkte Verwendbarkeit von p_H-Skalen. Z. Elektrochem 46, Nr 4, 253 (1940). — LIENEWEG u. NAUMANN, Elektrotechn. Z. 61, H. 29, 665 u. H. 30, 690 (1940).

[2]) Vgl. z. B. HOLGER JÖRGENSEN, Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration (p_H) und deren Bedeutung für Technik und Landwirtschaft. S. 154—158. Dresden u. Leipzig 1935: Theodor Steinkopff.

[3]) Vgl. J. FISCHER, Über den Einfluß der Temperatur bei der elektrischen Messung der Ionenkonzentration. Z. techn. Physik 21, Nr 8 (1940).

Die graphische Darstellung der EMK in Abhängigkeit von der Temperatur ergab merklich Gerade. An einer hochohmigen Glaselektrodenkette aufgenommene Kurven sind als Beispiel in der Fig. 1a, b, c wiedergegeben. An niederohmigen Glaselektroden wurden die gleichen Gesetzmäßigkeiten wie an hochohmigen gefunden. Wie aus diesen Figuren hervorgeht, hängt es vom p_H-Wert ab, ob die von der Glaselektrodenkette hervorgebrachte EMK mit wachsender Temperatur steigt, fällt oder gleich bleibt. Um die Temperaturabhängigkeit des Potentialsprungs an der Glasmembran als letztes zu isolieren, haben wir die Temperaturabhängigkeit der Ag—AgCl-Ableitung untersucht, indem wir diese in $^n/_{10}$ HCl-Lösung eingetaucht und bei verschiedenen stationären Temperaturen ihre EMK gegen eine auf konstanter Temperatur gehaltene gesättigte KCl-Kalomelelektrode gemessen haben. Das Ergebnis zeigt Fig. 2. Aus den Meßergebnissen an der Glaselektrodenkette und an der Ag—AgCl-Elektrode kann dann der Potentialsprung an der Glasmembran selbst in Abhängigkeit von der Temperatur bestimmt werden. Das Ergebnis zeigen die Fig. 3a, b, c. Der Potentialsprung P an der Glasmembran steigt, absolut genommen, bei p_H-Werten der Meßflüssigkeit, die größer sind als die der Glaselektrodenfüllung, gut linear mit wachsender Temperatur. Der spezifische Anstieg ist um so größer, je höher der p_H-Wert ist. Die dieses Ergebnis wiedergebenden Geraden gehorchen mit guter Annäherung der Gleichung

$$P(t; p_H) = P(t_0; p_H) - \alpha(t - t_0)\,(p_H - p_{H_F})$$

worin t die Meßtemperatur, t_0 die Bezugstemperatur und p_{H_F} der p_H-Wert der Füllflüssigkeit sind und α mit dem nach dem Nernstschen Gesetz zu erwartenden Wert

$$\frac{R \cdot \ln 10}{n \cdot F} = \frac{8{,}313 \cdot 2{,}3026}{1 \cdot 9{,}649 \cdot 10^4}\ \frac{\text{Joule}}{\text{Grad}}\ \frac{\text{Grad}}{\text{Coul}} = 0{,}1984\ \frac{\text{mV}}{\text{Grad}}$$

übereinstimmt. Die Gerade, die die Temperaturabhängigkeit der EMK der Elektrodenkette Ag—AgCl-Elektrode, $^n/_{10}$ HCl-Lösung, gesättigte KCl-Kalomelelektrode wiedergibt (Fig. 2) hat die Gleichung $e(t) = e(t_0) + \beta(t - t_0)$ mit dem empirischen Wert $\beta = 0{,}45$ mV/Grad. Die Addition beider Beziehungen ergibt die Temperaturabhängigkeit der Kombination nach Fig. 1:

$$E(t; p_H) = P(t; p_H) + e(t) = E(t_0; p_H) + (t - t_0)\,(\beta - \alpha \cdot p_H).$$

Ist also etwa $\varepsilon(t - t_0)$ die zugelassene (geforderte) Größe der Temperaturabhängigkeit der Messung, z. B. $\varepsilon = 0$, so besteht die Beziehung $\alpha \cdot p_H = \beta - \varepsilon$. Man erkennt die wichtige Rolle der Größe β für die Temperaturabhängigkeit.

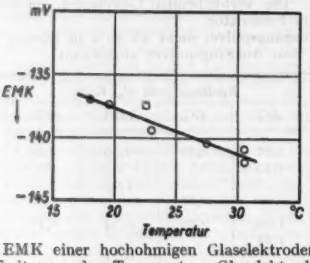

Fig. 1b. EMK einer hochohmigen Glaselektrodenkette in Abhängigkeit von der Temperatur, Glaselektrodenfüllung $^n/_{10}$-HCl-Lösung, Ableitung Ag—AgCl-Elektrode, Meßflüssigkeit $p_H = 4{,}47$. (Zitrat-HCl-Puffer.)

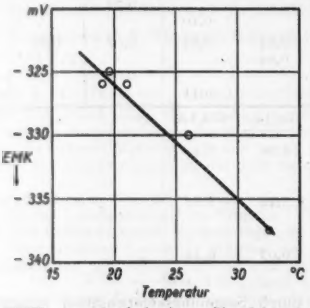

Fig. 1c. EMK einer hochohmigen Glaselektrodenkette in Abhängigkeit von der Temperatur, Glaselektrodenfüllung $^n/_{10}$-HCl-Lösung, Ableitung Ag—AgCl-Elektrode, Meßflüssigkeit $p_H = 7{,}70$. (Phosphatpuffer.)

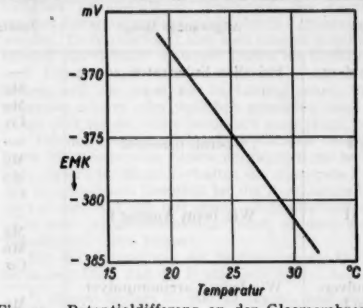

Fig. 3c. Potentialdifferenz an der Glasmembran einer mit $^n/_{10}$-HCl-Lösung gefüllten hochohmigen Glaselektrode in Abhängigkeit von der Temperatur, Meßflüssigkeit $p_H = 7{,}70$. (Phosphatpuffer.)

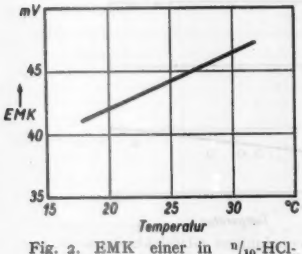

Fig. 2. EMK einer in $^n/_{10}$-HCl-Lösung getauchten Ag—AgCl-Elektrode gegen eine gesättigte KCl-Kalomelelektrode in Abhängigkeit von der Temperatur. (Mittelwertskurve.)

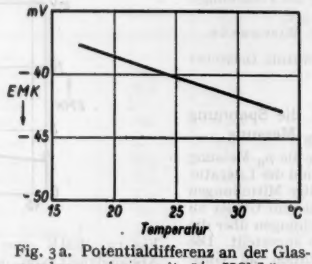

Fig. 3a. Potentialdifferenz an der Glasmembran einer mit $^n/_{10}$-HCl-Lösung gefüllten hochohmigen Glaselektrode in Abhängigkeit von der Temperatur, Meßflüssigkeit $p_H = 1{,}93$. (Zitrat-HCl-Puffer.)

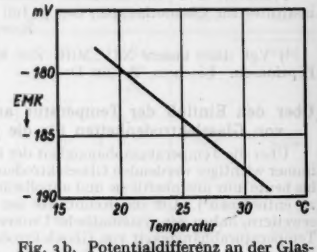

Fig. 3b. Potentialdifferenz an der Glasmembran einer mit $^n/_{10}$-HCl-Lösung gefüllten hochohmigen Glaselektrode in Abhängigkeit von der Temperatur, Meßflüssigkeit $p_H = 4{,}47$. (Zitrat-HCl-Puffer.)

Frankfurt a. M., Entwicklungsabteilung der Hartmann & Braun A.G., den 22. Juni 1942.

E. Wengel. N. Schrodt.

Herausgeber und verantwortlicher Redakteur: Fritz Süffert, Berlin W 9.
Springer-Verlag in Berlin W 9. — Druck der Spamer A.-G. in Leipzig.